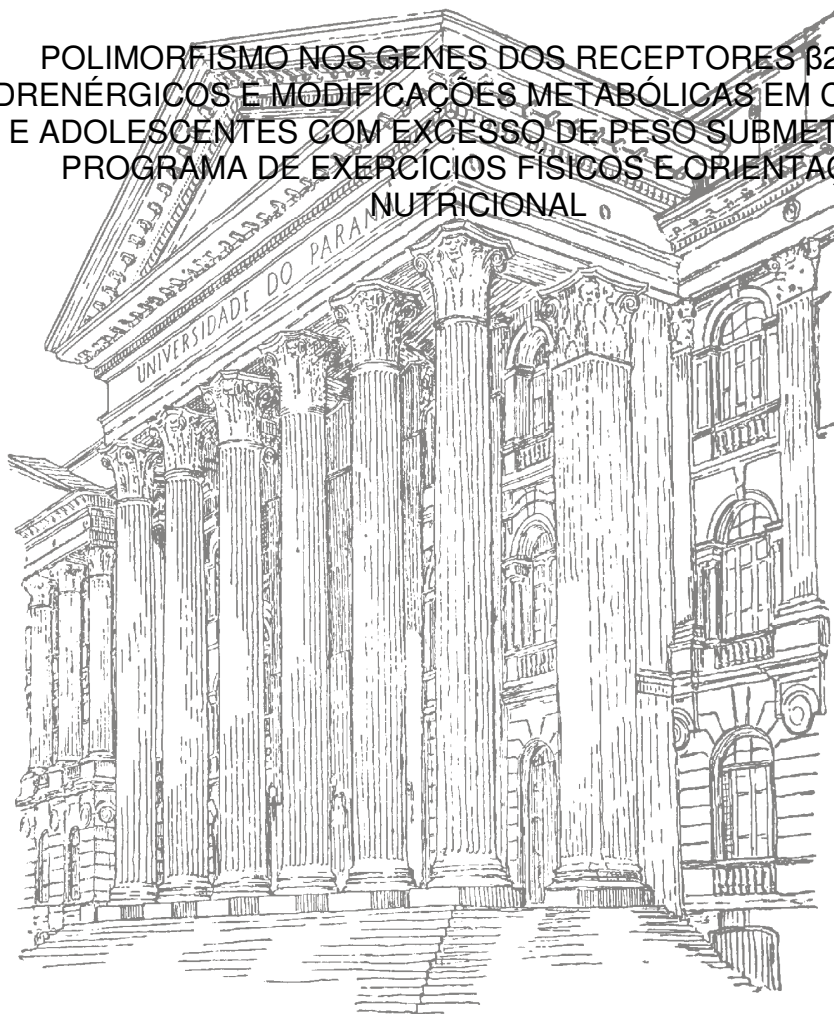


GERUSA EISFELD MILANO

POLIMORFISMO NOS GENES DOS RECEPTORES  $\beta 2$  E  $\beta 3$   
ADRENÉRGICOS E MODIFICAÇÕES METABÓLICAS EM CRIANÇAS  
E ADOLESCENTES COM EXCESSO DE PESO SUBMETIDOS A  
PROGRAMA DE EXERCÍCIOS FÍSICOS E ORIENTAÇÃO  
NUTRICIONAL



CURITIBA  
2013

GERUSA EISFELD MILANO

POLIMORFISMO NOS GENES DOS RECEPTORES  $\beta 2$  E  $\beta 3$   
ADRENÉRGICOS E MODIFICAÇÕES METABÓLICAS EM CRIANÇAS  
E ADOLESCENTES COM EXCESSO DE PESO SUBMETIDOS A  
PROGRAMA DE EXERCÍCIOS FÍSICOS E ORIENTAÇÃO  
NUTRICIONAL

Tese apresentada como requisito parcial  
para a obtenção do Título de Doutora em  
Educação Física do Programa de Pós-  
Graduação em Educação Física, do Setor  
de Ciências Biológicas da Universidade  
Federal do Paraná.

Orientador (a): Prof<sup>a</sup>. Dra. NEIVA LEITE  
Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. LUPE FURTADO ALLE

**Milano, Gerusa Eisfeld.**

**Polimorfismo nos genes dos receptores  $\beta 2$  e  $\beta 3$ , adrenérgicos e modificações metabólicas em crianças e adolescentes com excesso de peso submetidos a programa de exercícios físicos e orientação nutricional. / Gerusa Eisfeld Milano - Curitiba, 2013. 116 f : il. (color.); 29cm**

**Inclui bibliografia**

**Orientador: Neiva Leite**

**Tese (Doutorado em Educação Física)-Setor de Ciências Biológicas. Universidade Federal do Paraná.**

**1. Educação física. 2. Polimorfismo. 3. Arg16Gly. 4. G1n27Glu. 5. Trp64Arg. 6. Exercícios físicos. 6. Excesso de peso I. Título.**

**796  
M637**

## TERMO DE APROVAÇÃO



Ministério da Educação  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
Setor de Ciências Biológicas  
Programa de Pós-Graduação em Educação Física

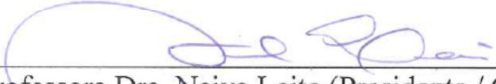



## TERMO DE APROVAÇÃO

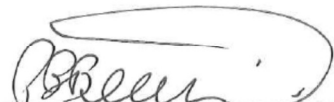
**GERUSA EISFELD MILANO**


**“Influência do polimorfismo dos receptores  $\beta 2$  e  $\beta 3$  adrenérgicos sobre a perda de peso em adolescentes submetidos a programa de exercício físico e orientação nutricional”**

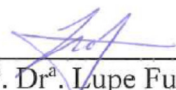
Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Educação Física – Área de Concentração Exercício e Esporte, Linha de Pesquisa Atividade Física e Saúde, do Programa de Pós-Graduação em Educação Física do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, pela seguinte Banca Examinadora:

  
Professora Dra. Neiva Leite (Presidente / Orientadora)  
BL / UFPR

  
Prof.<sup>ª</sup>. Dr.<sup>ª</sup>. Joice Mara Facco Stefanello  
Membro Interno

  
Prof. Dr. Paulo Cesar Barauce Bento  
Membro Interno

  
Prof. Dr. Ricardo Lehtonen R. de Souza  
Membro Externo

  
Prof.<sup>ª</sup>. Dr.<sup>ª</sup>. Lupe Furtado Alle  
Membro Externo

Curitiba, 14 de Fevereiro de 2013.

Dedico este trabalho ao meu marido Anderson pelo seu amor, auxílio e encorajamento nas horas mais difíceis; a fonte de paz, segurança e alegria, meu Senhor, Jesus Cristo, que é à base da minha vida e supre todas as minhas necessidades.

## **AGRADECIMENTO**

Aos meus pais, Odilon e Mirian Milano, pelo amor incondicional, investimento, respeito e valores transmitidos ao longo da vida.

Ao Anderson por sua paciência e compreensão nos momentos de ausência, por seu amor e apoio, me animando nos momentos difíceis.

Minha irmã Gisele, por sua paciência como bolsista IC do meu projeto. Não deve ser fácil trabalhar praticamente 24h no desenvolvimento das atividades.

Minha irmã Fabiane, pelo encorajamento e carinho.

A professora Dra. Neiva minha orientadora, pela oportunidade, parceria, horas dedicadas às correções e orientações no desenvolvimento da tese.

A professora Dra. Lupe Furtado Alle agradeço de forma especial por abrir as portas no grupo de pesquisa e confiar no meu trabalho.

Por todos do Núcleo de Pesquisa em Qualidade de Vida que auxiliaram de alguma forma.

Todos do laboratório de Polimorfismo que me ensinaram e acompanharam nas análises genéticas.

## RESUMO

O presente estudo teve dois objetivos, primeiro avaliar a frequência do polimorfismo Trp64Arg do gene  $\beta$ 3-adrenérgico (*ADBR3*) e Arg16Gly e Gln27Glu no gene do receptor  $\beta$ 2-adrenérgico (*ADBR2*) em crianças e adolescentes e relacioná-lo com as variáveis antropométricas, cardiorrespiratórias e metabólicas. O segundo investigar o papel do polimorfismo no gene *ADBR3* (Trp64Arg) e *ADBR2* (Arg16Gly e Gln27Glu) nas respostas das variáveis antropométricas, cardiorrespiratórias e metabólicas em crianças e adolescentes com excesso de peso, submetidas a tratamento multidisciplinar com 12 semanas de exercício físico e orientação nutricional. No primeiro estudo participaram 189 crianças e adolescentes, com excesso de peso, idade entre 10 e 16 anos, de ambos os sexos. Inicialmente avaliaram-se: estatura, peso, circunferência abdominal (CA), pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD), consumo máximo de oxigênio ( $VO_{2max}$ ), glicemia basal, colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade (HDL-C), lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) e triacilglicerol (TG). Foram calculados o índice de massa corporal (IMC) e o IMC-ESCORE Z. As mutações Trp64Arg (*ADBR3*) e Arg16Gly e Gln27Glu (*ADBR2*) foram avaliadas por genotipagem Taqman. No segundo estudo, participaram 83 crianças e adolescentes com excesso de peso em 12 semanas de exercício físico e orientação nutricional. Na fase inicial e após 12 semanas, avaliaram-se peso, estatura, CA, frequência cardíaca de repouso, PAS e PAD, taxa metabólica de repouso,  $VO_{2max}$ , glicemia basal e após 120min, insulina basal e após 120min, CT, HDL-C, LDL-C e TG. O IMC, IMC-ESCORE Z, *Homeostasis Metabolic Assessment* (HOMA-IR) e *Quantitative Insulin Sensitivity Check Index* (QUICKI) foram calculados. O exercício físico consistiu em sessões de 110 min, três vezes por semana, 45 min de ciclismo *indoor*, 45 min de caminhada e 20 min de alongamento. A intensidade foi de 35 a 55% do  $VO_{2max}$  nas primeiras quatro semanas e aumento até 55 a 75%. Utilizou-se teste t, Wilcoxon e teste de Qui-quadrado nos dados transversais. Nos dados longitudinais utilizou-se uma ANOVA com medidas repetidas e ANCOVA nas variáveis com dados iniciais diferentes. Todos com nível de significância de  $p < 0,05$ . Os dados transversais revelaram que no polimorfismo Gln27Glu (*ADBR2*) o valor de TG foi superior no grupo portador da mutação quando comparado ao usual ( $p=0,01$ ). Nas demais variáveis não houve diferenças significativas. Antes da intervenção, o HOMA-IR ( $p=0,001$ ) e GLI120 ( $p=0,03$ ) estavam mais elevados nos portadores do alelo 64Arg (*ADBR3*). Após as 12 semanas, o HOMA-IR apresentou maior redução no grupo com alelo 64Arg ( $p=0,01$ ), as demais variáveis tiveram semelhanças das respostas. No polimorfismo Arg16Gly (*ADBR2*), a GLI120 inicial foi maior nos portadores do alelo 16Gly ( $p=0,01$ ), as demais variáveis não diferenciaram. No polimorfismo Gln27Glu (*ADBR2*), a PAS ( $p=0,009$ ), PAD ( $p=0,01$ ) e TG ( $p=0,05$ ) iniciais foram maiores nos portadores do alelo 27Glu, as demais variáveis foram semelhantes. Após a intervenção, houve tendência a maior redução nos valores de TG ( $p=0,06$ ) e PAS ( $p=0,08$ ) no grupo com alelo 27Glu. Conclui-se que as respostas antropométricas, de aptidão física e redução do peso foram semelhantes nos grupos com e sem polimorfismo *ADBR2* e *ADBR3*. Entretanto, a terapêutica de 12 semanas de exercícios físicos aeróbios e orientação nutricional pode ser utilizada como estratégia na melhora da sensibilidade à insulina (polimorfismo Trp64Arg no receptor *ADBR3*) e na redução da PAS e TG (polimorfismo Gln27Glu do gene *ADBR2*). Sugere-se que, o incentivo às mudanças ambientais pode ser efetivo em crianças e adolescentes com excesso de peso, mesmo nos indivíduos com alterações metabólicas associadas ao componente genético.

**Palavras-chave:** Polimorfismo. Arg16Gly. Gln27Glu. Trp64Arg. Exercício físico. Excesso de peso.

## ABSTRACT

In this study we investigated associations between polymorphisms of the gene Trp64Arg  $\beta$ 3-adrenergic receptor (ADRB3) and Arg16Gly and Gln27Glu gene  $\beta$ 2-adrenergic receptor (ADRB2) in children and adolescents with anthropometric, cardiorespiratory and metabolic. The study included 189 children and adolescents aged between 10 and 16 years, of both sexes. Initially evaluated: height, weight, waist circumference (WC), systolic blood pressure (SBP) and diastolic (DBP), maximal oxygen consumption (VO2max), basal glucose, total cholesterol (TC), high density lipoprotein (HDL -C), low density lipoprotein (LDL-C) and triglyceride (TG). We calculated the body mass index (BMI) and BMI Z-SCORE Mutations Trp64Arg (ADRB3), and Arg16Gly Gln27Glu (ADRB2) was evaluated by PCR with Taqman. We also assessed the role of these variants (Trp64Arg, and Arg16Gly Gln27Glu) in the responses of anthropometric, cardiorespiratory and metabolic diseases in children and adolescents with overweight undergo multidisciplinary treatment with 12 weeks of exercise and nutritional counseling. Participated 83 children and adolescents with overweight at 12 weeks of exercise and nutritional guidance. In the initial stage and after 12 weeks were evaluated for weight, height, WC, resting heart rate, SBP and DBP, resting metabolic rate, VO2max, and after 120min basal glucose, basal insulin and after 120min, TC, HDL-C, LDL-C and TG. BMI, BMI Z-SCORE, Metabolic Homeostasis Assessment (HOMA-IR) and Quantitative Insulin Sensitivity Check Index (QUICKI) were calculated. Exercise sessions consisted of 110 minutes, three times per week, 45 minutes of indoor cycling, 45 min and 20 min walk stretching for 12 weeks. The intensity was between 35 to 55% VO2max in the first four weeks and gradually increasing until 55 to 75%. In cross-sectional data t test was used for normal data and Wilcoxon test for nonparametric data. In longitudinal data was used an ANOVA with repeated measures ANCOVA and the variables with different initial data, the non-normal data were transformed into logarithms. Data analysis showed that only the transverse Gln27Glu polymorphism (ADRB2) the value of TG was higher in the group carrying the mutation compared to usual. The remaining variables were not significant differences. Before the intervention, and HOMA-IR were higher in Gln120 allele 64Arg (ADRB3), after 12 weeks, only HOMA-IR showed a greater reduction in the group with allele 64Arg, other variables had similar responses. In Arg16Gly polymorphism (ADRB2) just Gln120 was higher in initial allele 16Gly and after intervention responses on lipid profile, metabolic, physical fitness and weight reduction between the groups with and without the mutation were similar. In Gln27Glu polymorphism (ADRB2) SBP, DBP, and TG were higher in initial allele 27Glu and other variables did not differ. After intervention responses on metabolic profile, anthropometric and physical fitness were similar, only the values of TG and SBP showed a trend toward greater reduction in the group with allele 26Glu. It is suggested that the relationship between gene ADRB3 with insulin resistance may be affected by physical activity and nutritional counseling, as well as SBP, DBP and TG mutation in Gln27Glu (ADRB2).

**Keywords:** Polymorphism. Arg16Gly. Gln27Glu. Trp64Arg. ADRB2. ADRB3. Exercise. Overweight.



## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 3.1 – DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL DAS ALTERAÇÕES DAS VARIÁVEIS PRESSÓRICAS E CIRCUNFERÊNCIA ABDOMINAL POR GENÓTIPO DO GENE <i>ADBR3</i> .....	47
FIGURA 3.2 – DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL DAS ALTERAÇÕES NO PERFIL LIPÍDICO E GLICEMIA POR GENÓTIPO DO GENE <i>ADBR3</i> .....	48
FIGURA 3.3 – DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL DAS ALTERAÇÕES DAS VARIÁVEIS PRESSÓRICAS E CIRCUNFERÊNCIA ABDOMINAL POR GENÓTIPO DO GENE <i>ADBR2</i> (ARG16GLY).....	49
FIGURA 3.4 – DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL DAS ALTERAÇÕES NO PERFIL LIPÍDICO E GLICEMIA POR GENÓTIPO DO GENE <i>ADBR2</i> (ARG16GLY) .....	50
FIGURA 3.5 – DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL DAS ALTERAÇÕES DAS VARIÁVEIS PRESSÓRICAS E CIRCUNFERÊNCIA ABDOMINAL POR GENÓTIPO DO GENE <i>ADBR2</i> (GLN27GLU) .....	52
FIGURA 3.6 – DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL DAS ALTERAÇÕES NO PERFIL LIPÍDICO E GLICEMIA POR GENÓTIPO DO GENE <i>ADBR2</i> (GLN27GLU) .....	52
FIGURA 4.1- DESENHO DO ESTUDO 2 .....	62
FIGURA 4.2 - MOTIVOS DE DESISTÊNCIA DO PROGRAMA DE EXERCÍCIO FÍSICO E ORIENTAÇÃO NUTRICIONAL .....	67

## LISTA DE TABELAS

TABELA 3.1 – COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS E DESVIOS-PADRÃO DAS VARIÁVEIS ANTROPOMÉTRICAS, PRESSÓRICAS E METABÓLICAS EM MENINOS E MENINAS .....	45
TABELA 3.2- VALORES DE FREQUÊNCIA GENOTÍPICA E ALÉLICA DOS GENES <i>ADBR3</i> (TRP64ARG), <i>ADBR2</i> (ARG16GLY) E <i>ADBR2</i> (GLN27GLU) .....	46
TABELA 3.3 – COMPARAÇÃO DAS MEDIAS E DESVIO-PADRÕES DAS VARIÁVEIS ANTROPOMÉTRICAS, CARDIORRESPIRATÓRIA E METABÓLICA ENTRE OS GRUPOS COM E SEM A MUTAÇÃO <i>ADBR3</i> (TRP64ARG) .....	47
TABELA 3.4– COMPARAÇÃO DAS MEDIAS E DESVIO-PADRÕES ENTRE AS VARIÁVEIS ANTROPOMÉTRICAS, CARDIORRESPIRATÓRIA E METABÓLICA NOS GRUPOS COM E SEM A MUTAÇÃO <i>ADBR2</i> (ARG16GLY) .....	49
TABELA 3.6 – COMPARAÇÃO DAS MEDIAS E DESVIO-PADRÕES DAS VARIÁVEIS ANTROPOMÉTRICAS, CARDIORRESPIRATÓRIA E METABÓLICA NOS GRUPOS COM E SEM A MUTAÇÃO GLN27GLU DO GENE <i>ADBR2</i> .....	51
TABELA 4.1 – VALORES DE DADOS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS DOS ÍNDIVÍDUOS COM EXCESSO DE PESO, ANTES E APÓS A INTERVENÇÃO .....	68
TABELA 4.2 VALORES DE DADOS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS DOS ÍNDIVÍDUOS COM E SEM A MUTAÇÃO TRP64ARG DO GENE <i>ADBR3</i> , INICIAL .....	69
TABELA 4.3 – VALORES DE DADOS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS DOS ÍNDIVÍDUOS COM E SEM A MUTAÇÃO Trp64Arg DO GENE <i>ADBR3</i> , ANTES E APÓS A INTERVENÇÃO .....	71
TABELA 4.4 - VALORES DE DADOS ANTROPOMÉTRICOS E	

	METABÓLICOS INICIAIS DOS INDIVÍDUOS COM E SEM A MUTAÇÃO DO GENE <i>ADBR2</i> (ARG16GLY) .....	72
TABELA 4.5 –	VALORES DE DADOS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS DOS ÍNDIVÍDUOS COM E SEM A MUTAÇÃO ARG16GLY DO GENE <i>ADBR2</i> , ANTES E APÓS A INTERVENÇÃO .....	74
TABELA 4.6 -	VALORES DE DADOS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS INICIAIS DOS INDIVÍDUOS COM E SEM A MUTAÇÃO DO GENE <i>ADBR2</i> (GLN27GLU) .....	75
TABELA 4.7 –	VALORES DE DADOS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS DOS ÍNDIVÍDUOS COM E SEM A MUTAÇÃO GLN27GLY DO GENE <i>ADBR2</i> , ANTES E APÓS A INTERVENÇÃO .....	77

## LISTA DE QUADROS

QUADRO 2.1 – FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DOS POLIMORFISMOS ARG16GLY E GLN27GLN DO GENE <i>ADBR2</i> ENTRE ESTUDOS DE DIFERENTES ETNIAS.....	27
QUADRO 2.2 – FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DO POLIMORFISMO TRP64ARG DO GENE <i>ADBR3</i> ENTRE ESTUDOS DE DIFERENTES ETNIAS .....	30
QUADRO 2.3 – RESUMO DOS ESTUDOS COM INTERVENÇÕES EM GRUPOS COM E SEM O POLIMORFISMO NOS RECEPTORES $\beta$ -ADRENÉRGICOS.....	36

## LISTA DE SIGLAS

<b>ABDR2</b>	- Receptor $\beta 2$ - adrenérgico
<b>ABDR3</b>	- Receptor $\beta 3$ - adrenérgico
<b>CA</b>	- circunferência abdominal
<b>cm</b>	- centímetros
<b>CT</b>	- colesterol total
<b>DP</b>	- desvio padrão
<b>FC</b>	- frequência cardíaca
<b>FC<sub>max</sub></b>	- frequência cardíaca máxima
<b>FC<sub>rep</sub></b>	- frequência cardíaca de repouso
<b>FCR</b>	- frequência cardíaca de reserva
<b>GMR</b>	- gasto metabólico em repouso
<b>HC</b>	- Hospital de Clínicas
<b>HDL-c</b>	- <i>high-density lipoprotein cholesterol</i>
<b>HOMA-IR</b>	- <i>Homeostasis Metabolic Assessment- Insulin Resistance</i>
<b>IMC</b>	- índice de massa corporal
<b>kg</b>	- quilos
<b>LDL-c</b>	- <i>low-density lipoprotein cholesterol</i>
<b>mg</b>	- miligramas
<b>min</b>	- minutos
<b>ml</b>	- mililitros
<b>ml. (kg.min)<sup>-1</sup></b>	- mililitros divididos por quilos e minutos
<b>mmHg</b>	- milímetros de mercúrio
<b>n</b>	- tamanho da amostra
<b>NS</b>	- não significativo
<b>PAS</b>	- pressão arterial sistólica
<b>PAD</b>	- pressão arterial diastólica
<b>%G</b>	- percentual de gordura
<b>QUICKI</b>	- <i>Quantitative Insulin Sensitivity Check Index</i>
<b>TG</b>	- triacilglicerol
<b>TSH</b>	- <i>thyroid-stimulating hormone</i> - hormônio estimulador da tireóide
<b>UFPR</b>	- Universidade Federal do Paraná
<b>VO<sub>2</sub></b>	- volume de oxigênio consumido
<b>VO<sub>2max</sub></b>	- consumo máximo de oxigênio

## LISTA DE ABREVIATURAS

Trp – Triptofano

Arg – Arginina

Gly – Glicina

Gln – Glutamina

Glu - Ácido Glutamínico

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
1.1 OBJETIVOS.....	19
1.1.1 Objetivo Geral.....	19
1.1.2 Objetivos Específicos.....	19
1.1.3 Hipóteses.....	20
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>22</b>
2.1 OBESIDADE .....	22
2.2 PREDISPOSIÇÃO GENÉTICA E OBESIDADE .....	25
2.2.1 Receptor Beta 2 – Adrenérgicos e Obesidade.....	26
2.2.2 Receptor Beta 3 – Adrenérgicos e Obesidade.....	29
2.2.3 Intervenção multidisciplinar e ADBR2 e ADBR3.....	32
<b>3 ESTUDO 1: POLIMORFISMO NOS RECEPTORES BETA 2 E 3 ADRENÉRGICO E PERFIL METABÓLICO EM ADOLESCENTES.....</b>	<b>38</b>
3.1 INTRODUÇÃO .....	38
3.2 OBJETIVOS .....	39
3.2.1 Objetivos específicos .....	39
3.3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
3.3.1 Participantes.....	40
3.3.2 Avaliações Antropométricas.....	41
3.3.3 Avaliação Clínica .....	41
3.3.4 Exames Laboratoriais.....	42
3.3.5 Análises Genéticas.....	42
3.3.6 Avaliação da aptidão cardiorrespiratória.....	43
3.3.7 Análise Estatística .....	44
3.4 RESULTADOS .....	45
3.4.1 Resultados Gerais .....	45
3.4.2 Comparação das frequências genotípicas .....	46
3.4.3 Resultados do efeito da mutação Trp64Arg no gene <i>ADBR3</i> sobre as variáveis antropométricas, cardiorrespiratórias e metabólica .....	46
3.4.4 Resultados do efeito da mutação Arg16Gly no gene <i>ADBR2</i> sobre	

as variáveis antropométricas, cardiorrespiratórias e metabólicas....	48
3.4.5 Resultados do efeito da mutação Gln27Gly no gene <i>ADBR2</i> sobre as variáveis antropométricas, cardiorrespiratórias e metabólicas....	50
3.5 DISCUSSÃO .....	54
3.5.1 Efeito da mutação Trp64Arg no gene <i>ADBR3</i> .....	54
3.5.2 Efeito da mutação Arg16Gly no gene <i>ADBR2</i> .....	55
3.5.3 Efeito da mutação Gln27Glu no gene <i>ADBR2</i> .....	57
3.6 CONCLUSÕES .....	58
<b>4 ESTUDO 2: PROGRAMA MULTIDISCIPLINAR EM ADOLESCENTES OBESOS COM DIFERENTES GENÓTIPOS PARA OS RECEPTORES BETA 2 E BETA3- ADRENÉRGICOS .....</b>	<b>59</b>
4.1 INTRODUÇÃO .....	59
4.2 OBJETIVOS .....	61
4.2.1 Objetivos Específicos .....	61
4.3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	62
4.3.1 Desenho do Estudo .....	62
4.3.2 Participantes.....	63
4.3.3 Avaliações Antropométricas.....	63
4.3.4 Avaliação da Composição Corporal .....	63
4.3.5 Avaliação Puberal.....	64
4.3.6 Avaliação da aptidão cardiorrespiratória .....	64
4.3.7 Avaliação do Gasto Metabólico de Repouso .....	64
4.3.9 Exames laboratoriais .....	64
4.3.9 Avaliações Genéticas.....	65
4.3.10 Avaliação nutricional .....	65
4.3.11 Programa de Exercício de Exercício Físico .....	66
4.3.12 Análise Estatística .....	66
4.4 RESULTADOS .....	67
4.4.1 Efeito do exercício físico e orientação nutricional e polimorfismo Trp64Arg no gene <i>ADBR3</i> .....	69
4.4.2 Efeito do exercício físico e orientação nutricional e polimorfismo Arg16Gly no gene <i>ADBR2</i> .....	72
4.4.3 Efeito do exercício físico e orientação nutricional e polimorfismo	



Gln27Glu no gene <i>ADBR2</i> .....	75
4.5 DISCUSSÃO .....	78
4.5.1 Comparação dos dados iniciais e finais.....	78
4.5.2 Comparação dos dados iniciais e finais no grupo com e sem o polimorfismo Trp64Arg no gene <i>ADBR3</i> .....	79
4.5.3 Efeito da mutação no gene <i>ADBR3</i> (Trp64Arg) e resistência à insulina.....	82
4.5.4 Comparação dos dados iniciais e finais no grupo com e sem o polimorfismo Arg16Gly no gene <i>ADBR2</i> .....	84
4.6 CONCLUSÕES .....	86
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	87
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	89
<b>APÊNDICES</b> .....	102
<b>ANEXOS</b> .....	107

## 1 INTRODUÇÃO

A prevalência de sobrepeso e obesidade aumentou nas últimas décadas e o desafio para os profissionais da área da saúde está na prevenção e terapêutica adotada para redução do excesso de peso. A mudança no estilo de vida em grande parte da população, reflexo da tecnologia na sociedade moderna, trouxe desequilíbrio energético, decorrente do aumento de ingestão de alimentos hipercalóricos e redução da atividade física. Pesquisas têm sido desenvolvidas para o melhor entendimento dos mecanismos envolvidos no controle ponderal, assim como de hormônios que são secretados pelo tecido adiposo e controlam as sensações de saciedade e fome (RODRIGUES, SUPLICY, RADOMINSKI, 2003; JANSSEN *et al.*, 2005; FUJISAWA *et al.*, 1998). O sucesso do tratamento para a redução de peso em indivíduos obesos depende da interação dos fatores ambientais, endógenos e hereditários (MORENO-ALIAGA *et al.*, 2005).

O ambiente pode interferir no peso corporal pela quantidade da ingestão calórica nas refeições e do gasto energético em atividades físicas. Esses fatores ambientais podem ter maior ou menor influência no controle do peso dependendo da hereditariedade de cada indivíduo (DEFORCHE *et al.*, 2003; MEHTA, CHANG, 2008). A taxa metabólica de repouso é um dos fatores endógenos que pode interferir o controle de peso, influenciada pelo balanço energético diário e pela quantidade de tecido adiposo e muscular (FUJISAWA *et al.*, 1998). Uma das formas de manutenção ou alteração do peso corporal está na redução ou aumento do metabolismo basal que pode ser influenciado por fatores genéticos (MORENO-ALIAGA *et al.*, 2005). Baseados nisso, alguns estudos têm analisado a relação dos receptores  $\beta$ -adrenérgicos e o controle de peso corporal (MORENO-ALIAGA *et al.*, 2005).

Os receptores  $\beta 2$  e  $\beta 3$ -adrenérgicos estão envolvidos na regulação da lipólise, da termogênese e conseqüentemente desempenham importante papel no controle de peso corporal (FUJISAWA *et al.*, 1998, VILLARES *et al.*, 2000). As mutações nos receptores  $\beta 3$  localizado na posição 64 (Trp64Arg) e do receptor  $\beta 2$  nas posições 16 (Arg16Gly) e 27 (Gln27Glu) estão associados a diversos fatores que podem aumentar o tecido adiposo (WALSTON *et al.*, 2003; MATTEVI *et al.*, 2006). Os indivíduos com as mutações nos receptores  $\beta 2$  (ADBR2) e/ou  $\beta 3$ -adrenérgico (ADBR3) podem apresentar ganho de peso (FUJISAWA *et al.*, 1998),

principalmente pelo aumento na massa de gordura (DIONNE *et al.*, 2001) e consequentemente apresentar o IMC mais elevado (MATTEVI *et al.*, 2006). Entretanto, outros trabalhos não encontraram relação do polimorfismo no receptor ADBR2 e ADBR3 com a obesidade (GAGNON *et al.*, 1996) ou a perda de peso (MATSUSHITA *et al.*, 2003).

Os poucos trabalhos que avaliaram a relação entre as mutações nos receptores adrenérgicos e obesidade na infância trazem diferentes conclusões. Alguns trabalhos relataram associação do aumento na adiposidade e variáveis relacionadas à obesidade em crianças portadoras da mutação Trp64Arg do gene *ADBR3* (ARASHIRO *et al.* 2003; PORTO *et al.*, 2004; ERHARDT *et al.*, 2005) e Arg16Gly no gene *ADBR2* (CHOU *et al.*, 2012). Entretanto, outras pesquisas não encontraram nenhuma relação das mutações nos genes ADBR2 e ADBR3 com a obesidade (KUROKAWA *et al.*, 2003; TAFEL *et al.*, 2004).

Trabalhos que investigaram o impacto do polimorfismo do gene *ADBR3* sobre a redução do peso corporal após dieta hipocalórica encontraram resultados controversos (TCHERNOF *et al.*, 2000; KIM *et al.*, 2003). Outras pesquisas que submeteram adultos obesos com e sem a mutação do receptor *ADBR3* à dieta e atividade física concluíram que os obesos com a mutação tiveram maior dificuldade na perda de peso (SHIWAKU *et al.*, 2003; LUIS *et al.*, 2007). Outro estudo que avaliou o efeito da mutação no gene  $\beta$ 2-adrenérgico (*ADBR2*) sobre a perda de peso em adultos não encontrou relação entre a mutação e a resposta na perda de peso (PHARES *et al.* 2004).

Em crianças, um trabalho que utilizou uma intervenção dietética, com três meses de duração, para comparar as diferentes repostas de crianças com a mutação no gene ADBR3 (Trp64Arg), os autores concluíram que após três meses de intervenção as crianças com a mutação apresentaram aumento no IMC superior quando comparado ao grupo sem a mutação (XINLI *et al.*, 2001). Não foram encontrados estudos que avaliassem as respostas metabólicas após intervenção com orientação nutricional e exercício físico em crianças e adolescentes obesos com e sem as mutações Arg16Gly e Gln27Glu no gene *ADBR2*.

Estudos em indivíduos com e sem mutações nos genes dos ADBR2 e ADBR3 revelaram resultados controversos, desta forma, faz-se necessário estudo que avalie a influência das mutações nos genes ADBR2 e ADBR3 sobre as variáveis antropométricas e metabólicas em crianças e adolescentes, assim como as

influências destas mutações nas alterações das variáveis antropométricas e metabólicas após intervenção com exercício físico e orientação nutricional em crianças e adolescentes com excesso de peso. Caso haja influência da presença dos polimorfismos com a menor perda de peso, reforça-se a abordagem multidisciplinar diferenciada em obesos que apresentem os polimorfismos, promovendo maior ênfase sobre os fatores ambientais para ocorrer perda de peso.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

O objetivo deste estudo foi investigar o papel do polimorfismo Trp64Arg do gene *ADBR3* e dos polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu do gene *ADBR2* em parâmetros antropométricos e metabólicos de crianças e adolescentes e sua relação com as respostas das variáveis antropométricas, composição corporal, pressóricas, metabólicas e perfil lipídico após tratamento multidisciplinar com 12 semanas de exercício físico e orientação nutricional em crianças e adolescentes com excesso de peso.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- Estimar a frequência do polimorfismo Trp64Arg do gene *ADBR3*, Arg16Gly e Gln27Glu do gene *ADBR2* em adolescentes com excesso de peso.
- Relacionar as mutações nos genes *ADBR2* (Arg16Gly, Gln27Glu) e *ADBR3* (Trp64Arg) com as variáveis antropométricas (peso, IMC-escore Z e circunferência abdominal).

- Definir a relação das mutações nos genes *ADBR2* (Arg16Gly, Gln27Glu) e *ADBR3* (Trp64Arg) com as variáveis pressóricas (pressão arterial sistólica e diastólica) e metabólicas (glicemia e perfil lipídico).
- Determinar o efeito de 12 semanas de exercícios físicos e orientação nutricional nas variáveis antropométricas e de composição corporal (peso, IMC, IMC-escore Z, percentual de gordura, massa livre de gordura, circunferência abdominal), variáveis pressóricas (pressão arterial sistólica e diastólica), metabólicas (glicemia, insulina basal, glicemia 120min, insulina 120min, HOMA-IR, QUICKI e perfil lipídico) e do gasto metabólico basal em relação à presença ou não do alelo Trp64Arg do gene *ADBR3*.
- Verificar o efeito de 12 semanas de exercícios físicos e orientação nutricional nas variáveis antropométricas e de composição corporal (peso, IMC, IMC-escore Z, percentual de gordura, massa livre de gordura, circunferência abdominal) variáveis pressóricas (pressão arterial sistólica e diastólica), metabólicas (glicemia, insulina basal, glicemia 120min, insulina 120min, HOMA-IR, QUICKI e perfil lipídico) em relação à presença ou não do alelo Arg16Gly do gene *ADBR2*.
- Definir o efeito de 12 semanas de exercícios físicos e orientação nutricional nas variáveis antropométricas e de composição corporal (peso, IMC, IMC-escore Z, percentual de gordura, massa livre de gordura, circunferência abdominal) variáveis pressóricas (pressão arterial sistólica e diastólica), metabólicas (glicemia, insulina basal, glicemia 120min, insulina 120min, HOMA-IR, QUICKI e perfil lipídico) em relação à presença ou não do alelo Gln27Glu do gene *ADBR2*.

### 1.1.3 Hipóteses

H1- Os portadores da mutação Trp64Arg do gene *ADBR3* e o alelo Arg16Gly e Gln27Glu do gene *ADBR2* apresentarão maiores valores de peso corporal, IMC score-Z, circunferência abdominal e percentual de gordura.

H2- O grupo com mutações nos receptores *ADBR2* e *ADBR3* apresentará menor redução no peso, IMC, IMC-escore Z e percentual de gordura após 12 semanas de exercícios físicos e orientação nutricional quando comparado ao grupo sem a mutação estudada.

H3- Apenas os portadores das mutações nos receptores *ADBR2* e *ADBR3* apresentarão redução na taxa metabólica de repouso após 12 semanas de exercícios físicos e orientação nutricional.

H4- O grupo com mutações nos receptores *ADBR2* e *ADBR3* apresentará menor redução nas variáveis pressóricas (pressão arterial sistólica e diastólica) e metabólicas (glicemia, insulina basal, glicemia 120min, insulina 120min, HOMA-IR, QUICKI, perfil lipídico) em relação ao grupo sem a mutação.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

A obesidade é síndrome multifatorial influenciada por fatores genéticos, endócrinos e ambientais (ARASHIDO *et al.*, 2003; MATTEVI, ZEMBRZUSKI, HUTZ, 2006). A compreensão dos fatores envolvidos no aumento do peso corporal é importante para utilizar estratégia adequada no tratamento e prevenção do excesso de peso. Muitos estudos têm avaliado a influência genética e sabe-se que existem centenas de genes relacionados à obesidade (BOUCHARD *et al.*, 2004). Entre os genes, destacam-se os receptores  $\beta$ -adrenérgicos (*ADRB2* e *ADRB3*) associados à mobilização de lipídios por meio da ativação da lipólise (WALSTON *et al.*, 2003; MATTEVI *et al.*, 2006) e controle do gasto energético (MARQUES-LOPES *et al.*, 2004). Desta forma, a revisão de literatura apresentará alguns fatores para o desenvolvimento e tratamento da obesidade, investigando a possível influência de polimorfismos nos genes *ADRB2* e *ADRB3* sobre a manutenção da obesidade.

### 2.1 OBESIDADE

Os fatores envolvidos no desenvolvimento e aumento da obesidade têm sido o cerne de algumas pesquisas (CARANTI *et al.*, 2007; LEITE *et al.*, 2009). Tal preocupação tem se dado pelo aumento na prevalência de excesso de peso em inúmeros países desenvolvidos e em desenvolvimento (JANSSEN *et al.* 2005). O número de adultos diagnosticados com excesso de peso ( $IMC > 25 \text{ kg/m}^2$ ) e obesidade ( $IMC > 30 \text{ kg/m}^2$ ) aumentou dramaticamente nos últimos anos no Brasil. Dados do IBGE revelam que o excesso de peso quase triplicou entre homens, de 18,5% em 1974-75 foi para 50,1% em 2008-09; sendo que a obesidade aumentou de 2,8% para 12,4%. Nas mulheres, na década de 70 a prevalência de excesso de peso era de 28,7% e passou para 48% em 2008-09; a obesidade aumentou mais de duas vezes entre as mulheres, de 8% para 16,9% (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE, 2009).

O aumento da prevalência da obesidade entre as crianças é fator preocupante, pois na adolescência, idade entre 10 e 19 anos, o estudo do IBGE

(2009) revelou que o excesso de peso e obesidade foi diagnosticado em 21,5% e 5,9% dos meninos, 19,4% e 4% das meninas, respectivamente (IBGE, 2009). Os dados do IBGE (2009) ainda revelam que a população localizada em centro urbano apresenta maior prevalência de sobrepeso e obesidade em todas as faixas etárias.

.O peso corporal depende basicamente da ingestão calórica e o gasto energético total do organismo. O desequilíbrio energético, com o aumento da ingestão calórica e a redução do gasto de energia, pode desencadear o aumento do peso corporal e em longo prazo levar ao aparecimento do excesso de peso (RODRIGUES *et al.*, 2008). O aumento da obesidade está associado a diversos fatores como a hereditariedade, a disfunção glandular e o ambiente. Sendo assim, a mudança no estilo de vida, com a ingestão inadequada de alimentos (MEHTA, CHANG, 2008) e a redução no nível de atividade física são apontadas como causas do aumento da obesidade (DEFORCHE *et al.*, 2003). Essas modificações podem ser consequências do mau uso da tecnologia na sociedade moderna, resultando em hábitos inativos e reduções do gasto calórico, ocasionando menor nível de aptidão física (THÖRÖK *et al.*, 2001).

O sedentarismo vem crescendo entre as crianças e adolescentes, que se envolvem cada vez menos em atividades vigorosas e aumentam o tempo dedicado às atividades com menor gasto energético (BRACCO *et al.*, 2002; HANCOX; MILNE; POULTON; 2004). A quantidade de tempo que os indivíduos assistem à televisão tem sido associada à obesidade, sendo mais evidente nas pessoas que assistem televisão pelo menos 2h por dia (HANCOX, MILNE, POULTON, 2004). É importante ressaltar que o problema não está no ato de assistir televisão, utilizar o computador ou jogar videogame, mas sim na ausência de tempo para realizar atividades físicas. Estudos que avaliaram o nível de atividade física em crianças e adolescentes obesos revelaram que existe preferência por atividades sedentárias no grupo obeso (REYBROUCKS *et al.* 1987; BARUKI *et al.*, 2006).

A presença da obesidade na infância e adolescência é preocupante por seus impactos psicossociais negativos e sua associação com doenças crônicas degenerativas como as cardiovasculares, diabetes mellitus do tipo 2, hipertensão arterial e dislipidemias (CARNEIRO *et al.*, 2000; LEITE, 2005; KUSCHNIR; MENDONÇA, 2007). Além disso, outro ponto crítico para a obesidade infantil é que 50 a 80% das crianças com excesso de peso possuem tendência a se tornarem



adultos obesos, apresentando maior gravidade na obesidade do que aqueles que se tornaram obesos quando adultos (FERNANDEZ *et al.*, 2004).

O tratamento da obesidade busca reduzir o excesso de gordura corporal e as co-morbidades. A maior ou menor redução no peso depende da adesão terapêutica que incluem a educação alimentar e a prática de atividade física regular. A prática regular de exercícios físicos é importante fator (ORTEGA *et al.*, 2007), eficiente no controle e prevenção da obesidade (EDWARDS, 2008). A obesidade está frequentemente relacionada à diminuição da capacidade física e fadiga prematura. Pesquisadores ressaltam a importância de incentivar a redução no tempo se locomovendo de carro (FRANK, ANDRESEN, SHMID, 2004) e aumentar a utilização de bicicletas e a caminhada como forma de prevenção e tratamento da obesidade, tanto na população pediátrica (JANSSEN, *et al.*, 2005), como em adultos (MCCORMACK; CORTI; BULSARA, 2008; LINDSTRÖM, 2008; HAMER; CHIDA, 2008).

O gasto energético total é composto pela atividade física, termogênese alimentar e taxa metabólica de repouso. A taxa metabólica de repouso é a quantidade de energia necessária para o corpo humano manter os processos vitais e compreende a maior parte do gasto energético total, cerca de 70 a 75% do gasto energético (ASTRUP *et al.*, 1999). A taxa está diretamente relacionada com a massa magra do indivíduo, gênero, idade, estágio puberal e genética (MOLNÁR, SCHUTZ, 1997). Variações no gasto energético, tal como redução na taxa de metabolismo de repouso, pode associar-se ao ganho de peso e acúmulo de gordura corporal (MOLNÁR, SCHUTZ, 1997).

Um dos principais problemas de programas para redução do peso que incluem somente dieta é a diminuição da massa magra e, conseqüentemente, da taxa metabólica de repouso. O exercício físico em indivíduos obesos que apresentam redução no peso tem papel fundamental para manutenção da massa magra e assim mantém os gastos com taxa metabólica de repouso (ACSM, 2006).

Sothorn *et al.* (1999) realizaram estudo com crianças obesas submetidas a tratamento multidisciplinar que incluía dieta, exercícios aeróbios e anaeróbios e foram encontradas redução do peso e da gordura corporal, sem alterações na taxa metabólica de repouso e na massa magra. Entretanto, outra pesquisa com crianças e adolescentes obesos submetidos a tratamento multidisciplinar com dieta e exercício físico apresentaram redução na massa magra e conseqüentemente na

taxa metabólica de repouso (LEITE, 2005). Desta forma, as diferentes respostas metabólicas podem estar relacionadas a fatores intrínsecos, como os fatores genéticos.

Evidências científicas relatando a importância dos exercícios físicos regulares e orientação nutricional para a redução do peso corporal e consequente melhora do perfil metabólico. Leite (2005) avaliou o efeito de 12 semanas de exercício físico e orientação nutricional em 55 crianças e adolescentes com sobrepeso e obesidade na faixa etária dos 10 aos 16 anos. Os resultados desse estudo revelaram que o programa multidisciplinar é fundamental para melhora do perfil lipídico, na redução da resistência à insulina, aumento da condição cardiorrespiratória e redução da hipertensão arterial. Entretanto, ao comparar o percentual de perda de peso e a taxa metabólica de repouso observou-se que nas meninas com excesso de peso, mesmo realizando exercícios físicos e orientação nutricional, houve redução na taxa metabólica de repouso e consequentemente menor perda de peso.

## 2.2 PREDISPOSIÇÃO GENÉTICA E OBESIDADE

Nos últimos anos, o interesse nos mecanismos envolvidos no controle do peso corporal cresceu, principalmente devido ao aumento na prevalência do excesso de peso em todas as faixas etárias (JANSSEN *et al.*, 2005) e pelas descobertas de genes relacionados à obesidade. O peso corporal de cada indivíduo depende de diversos fatores intrínsecos (endógenos) e extrínsecos (ambientais), que mantêm o equilíbrio dos sistemas corporais (MATTEVI, ZEMBRZUSKI, HUTZ, 2006).

Evidências têm sugerido que a obesidade está sujeita a fatores ambientais e genéticos (MATTEVI, ZEMBRZUSKI, HUTZ, 2006). Assim, a parte endógena tem importante papel na regulação do balanço energético, estimulando ou não a mobilização da gordura como fonte de energia. Atualmente, foram identificados locos relacionados à obesidade em todos os cromossomos autossomos e no cromossomo X (RANKINEN *et al.*, 2005).

Estudo em gêmeos, com o objetivo de determinar a existência de qualquer evidência entre genótipo e superalimentação ou genótipo e balanço energético

negativo, concluiu que a sensibilidade no balanço energético parece ser em grande parte explicada por fatores genéticos (BOUCHARD, TREMBLEY, 1997). Apesar dos estudos envolvendo gêmeos monozigóticos indicarem que existe relação entre genética e fatores relacionados ao controle do peso corporal, tais como, taxa metabólica de repouso, gasto energético, ingestão alimentar, entre outros, ainda não foi possível identificar qual o impacto da genética e como ela influencia os mecanismos de controle do peso corporal.

Sendo assim, o controle de peso corporal pode ser influenciado pelo metabolismo energético, taxa metabólica de repouso e lipólise. Leite (2005) relatou haver diferentes respostas na taxa metabólica de repouso após tratamento não-medicamentoso (exercício físico e orientação nutricional), no qual principalmente nas meninas houve redução significativa no metabolismo basal, ocasionando menor perda de peso. Desse modo, existem diferentes repostas metabólicas que podem resultar na redução ou não do metabolismo de repouso após intervenção com exercício e dieta, revelando a necessidade de investigação mais aprimorada sobre a influência do controle genético sobre a resposta no metabolismo de repouso. Assim, é importante analisar as funções que podem estimular ou inibir a termogênese, assim como a mobilização de estoques de gordura.

### 2.2.1 Receptor beta 2 – adrenérgicos e Obesidade

Dentre muitos genes candidatos à obesidade existe um grupo em especial que está sendo investigado por sua participação na regulação e dispêndio de energia, os genes beta-adrenérgicos (ADBR). Variantes genéticas dos genes ADBR têm sido relacionadas com a obesidade (MARTI *et al.*, 2008). Mutações localizadas no códon 16 do receptor  $\beta_2$  (Arg16Gly; rs1042713) e no códon 27 (Gln27Glu; rs1042714), estão associadas à mobilização de lipídios por meio da ativação da lipólise e consequentemente relacionados a indicadores de obesidade (ELLSWORTH *et al.*, 2002; MATTEVI *et al.*, 2006, CHOU *et al.*, 2012; DAGHESTANI *et al.*, 2012). ADBR2 é um subtipo do receptor adrenérgico, lipolítico e que desempenha papel importante na regulação da homeostase da energia, controlando mobilização quebra de glicogênio e lipídios (BARBE, *et al.*, 1996).

A frequência dos polimorfismos no ADBR2 varia em cada população dependendo da etnia estudada. No quadro 1 estão alguns estudos nacionais e internacionais com as diferentes frequências dos polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu do gene ADBR2.

Referência	Gene	País	N	Frequência Genotípica			Frequência Alélica	
				11	12	22	1	2
CHOU <i>et al.</i> , 2012	ADBR2 (Arg16Gly)	Taiwan	559	33,9 % (191)	46,4% (259)	19,5% (109)	57,33 % (641)	42,67 % (477)
	ADBR2 (Gln27Glu)	Taiwan	559	83,7 % (468)	15,2 % (85)	1,1% (6)	91,49 % (1021)	8,51% (95)
DAGHESTANI <i>et al.</i> , 2012	ADBR2 (Arg16Gly)	Arábia Saudita		50,1 % (76)	19,9% (29)	28,1% (41)	61,9% (181)	38,1% (111)
ANGELI <i>et al.</i> , 2011	ADBR2 (Arg16Gly)	Brasil	361	29,3% (106)	51% (184)	19,7 (71)	54,8% (396)	45,2% (326)
ELLSWORTH <i>et al.</i> 2002	ADBR2 (Arg16Gly)	EUA	1151	36,5% (420)	48,2% (555)	15,3% (176)	60,6% (1395)	39,4% (907)
PODOLSKY <i>et al.</i> , 2007	ADBR2 (Gln27Glu)	EUA Euro-americano	211	31% (66)	48% (101)	21% (44)	55% (233)	45% (189)
MATTEVI <i>et al.</i> 2006	ADBR2 (Arg16Gly)	Brasil	334	19% (64)	49% (164)	32% (106)	44% (292)	56% (376)
	ADBR2 (Gln27Glu)	Brasil	334	48% (160)	41% (137)	11% (37)	68% (457)	32% (211)

11 homozigoto para o primeiro alelo; 12 heterozigoto; 22 homozigoto para o segundo alelo.

QUADRO 2.1 – FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DOS POLIMORFISMOS ARG16GLY E GLN27GLN DO GENE ADBR2 ENTRE ESTUDOS DE DIFERENTES ETNIAS

A associação destes polimorfismos com a obesidade tem sido relatada em muitos trabalhos. Estudo realizado na população sul brasileira revelou que homens com a mutação Arg16Gly apresentavam o IMC mais elevado, entretanto, em relação à mutação Gln27Glu do receptor  $\beta$ 2-adrenérgico não foram encontradas diferença de IMC (MATTEVI *et al.*; 2006).

Daghestani *et al.* (2012) avaliaram a relação entre o polimorfismo Arg16Gly e obesidade e sua influência nos parâmetros antropométricos e metabólicos em 329 saudáveis, com idades entre 18 e 36 anos. Os autores concluíram que o grupo classificado com sobrepeso e obesidade apresentou maior frequência do alelo Gly16 quando comparado aos indivíduos eutróficos. Além disso, os portadores do alelo Gly16, independente do IMC, apresentaram maior circunferência de cintura e quadril, lipídeos plasmáticos, leptina, glicose e maior resistência à insulina, quando comparados ao grupo sem o alelo Gly16.

Quanto à pressão arterial existem alguns trabalhos com resultados controversos. Kato *et al.* (2001) estudaram a relação entre o polimorfismo Arg16Gly e Gln27Glu no gene *ADBR2* com a hipertensão na população japonesa. Os autores concluíram que dos dados testados nesta população não foram suficientes para relacionar os polimorfismos no *ADBR2* (Arg16Gly e Gln27Glu) com a hipertensão em japoneses. Entretanto, Masuo *et al.* (2005) avaliaram homens japoneses durante o período de cinco anos e relataram que a presença do alelo Gly16 no gene *ADBR2* está associada com o maior ganho de peso, aumento da pressão arterial acompanhada por noradrenalina plasmática mais elevada. Além disso, foi encontrado maior frequência do alelo Glu27 (*ADBR2*) nos indivíduos com a pressão arterial elevada quando comparado ao grupo não portador da mutação. Villares *et al.* (2000) também encontraram associação entre o polimorfismo Gln27Glu e hipertensão arterial em pacientes com obesidade mórbida.

Em crianças e adolescentes, alguns trabalhos têm encontrado resultados divergentes. Chou *et al.* (2012) investigaram a associação entre os polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu no gene *ADBR2* e Trp64Arg no gene *ADRB3* com obesidade em adolescentes do Taiwan. O polimorfismo Arg16Gly do *ADBR2* foi associado à obesidade em meninas e à menor probabilidade de hipertensão em adolescentes obesos. Os polimorfismos Gln27Glu no gene *ADBR2* e Trp64Arg no gene *ADRB3* não foram associados com a obesidade em adolescentes do Taiwan.

Ellsworth *et al.* (2002) avaliaram o efeito do polimorfismo Arg16Gly no gene *ADBR2* em 1151 homens e mulheres avaliados desde a infância até a idade adulta. Os meninos que apresentavam o genótipo Arg16Gly e Gly16Gly na idade de aproximadamente 21 anos, tendiam a ter maior IMC e maiores medidas de dobras cutâneas do que os participantes com genótipos Arg16Arg. Nos genótipos Gly16Gly e Arg16Arg as diferenças de medidas relativas à obesidade tornaram-se maiores

com a idade, atingindo valores significativos com a idade de 35 anos. Nas meninas foram observadas diferenças significativas para IMC e dobras subescapulares entre os genótipos Arg16Arg e Gly16Gly, mas não havia padrões claros de mudança nas medidas de obesidade com a idade.

Tafel *et al.* (2004) investigaram a possível associação entre os polimorfismos nos receptores ADRBR2 e ADBR3 e a obesidade precoce, no qual foram avaliadas 430 crianças alemãs. Os autores concluíram que os polimorfismos nos receptores ADBR2 e ADBR3 não estão envolvidos na patogênese da obesidade infantil.

Ochoa *et al.*, (2006) avaliaram a interação entre o polimorfismo Gln27Glu do gene *ADBR2* e o tempo gasto para assistir televisão com o risco de obesidade em crianças e adolescentes espanhóis. Os resultados mostraram que as meninas portadoras do alelo 27Glu tinham o risco mais elevado de desenvolver a obesidade, mesmo quando o tempo de gasto assistindo televisão era classificado como baixo. Os autores sugerem que o efeito do sedentarismo no valor do peso corporal pode depender do genótipo do indivíduo.

### 2.2.2 Receptor beta 3 – adrenérgicos e Obesidade

Os receptores adrenérgicos pertencem a grande família de G receptores acoplados à proteína que regulam grande variedade de respostas fisiológicas. O receptor ADBR3, localizado principalmente no tecido adiposo, tem papel importante no metabolismo dos adipócitos, mediando a taxa de lipólise, em resposta a catecolaminas (DERAM e VILLARES, 2009). Um polimorfismo muito estudado no gene *ADBR3*, localiza-se na posição 64 (Trp64Arg) com a substituição de um Triptofano (Trp) por uma Arginina (Arg); esta substituição tem sido associada ao aumento no tecido adiposo (KIM-MOTOYAMA *et al.*, 1997; CORELLA *et al.*, 2001).

A frequência da mutação no gene *ADBR3* é diferente dependendo da etnia estudada, estudo de meta-análise revelou que o polimorfismo no Trp64Arg ocorre de 8 a 10% na população caucasiana, cerca de 20% em japoneses e próximo a 40% nos esquimós do Alasca. No quadro 2 foram apresentados alguns estudos que avaliaram a frequência do polimorfismo Trp64Arg do gene *ADBR3* em diferentes populações.

Referência	País	N	Frequência Genotípica			Frequência Alélica	
			Trp64Trp	Trp64Arg	Arg64Arg	Trp	Arg
ARASHIRO <i>et al.</i> , 2003	<b>Japão</b>	105	61,9% (65)	35,2% (37)	2,9% (3)	79,5% (167)	20,5% (43)
CHOU <i>et al.</i> , 2012	<b>Taiwan</b>	559	72,3 % (405)	26,1% (145)	1,6% (9)	85,42 % (955)	14,58 % (163)
XINLI <i>et al.</i> , 2001	<b>China</b>	151	66,2% (100)	31,8% (48)	2% (3)	82,39 % (248)	17,61 % (53)
ERHARDT <i>et al.</i> , 2005	<b>Hungria</b>	422	88,9% (393)	10,53% (47)	0,46% (2)	94,23 % (833)	5,77% (51)
PORTO <i>et al.</i> , 2004	<b>Argentina</b>	175	85% (149)	14,5% (25)	0,5% (1)	92,28 % (323)	7,72% (27)
PODOLSKY <i>et al.</i> , 2007	<b>EUA</b> Euro- americano		88% (168)	9% (17)	3% (6)	92% (353)	8% (29)
MATTEVI <i>et al.</i> , 2006	<b>Brasil</b>	334	80% (267)	18% (60)	2% (7)	89%	11%

QUADRO 2.2 – FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DO POLIMORFISMO TRP64ARG DO GENE *ADBR3* ENTRE ESTUDOS DE DIFERENTES ETNIAS

Um dos primeiros estudos que relacionou a mutação Trp64Arg no gene *ADBR3* com a obesidade avaliou 94 indivíduos normais e 185 obesos mórbidos. A frequência da mutação nos indivíduos eutróficos e obesos foi semelhante. Contudo, os obesos com o genótipo Trp64Arg apresentaram peso mais elevado e maior capacidade de ganho de peso após 25 anos de avaliação quando comparados ao grupo Trp64Trp (CLÈMENT *et al.* 1995). Assim, a mutação Trp64Arg no gene *ADBR3* pode aumentar a capacidade de ganho de peso. Outros estudos posteriormente corroboraram com esses achados, principalmente pelo aumento na massa de gordura (FUJISAWA *et al.*, 1998; DIONNE *et al.*, 2001). Entretanto, Büettener *et al.* (1996) relataram não ter encontrado relação entre polimorfismo no

gene Trp64Arg e obesidade ou perda de peso (GAGNON *et al.*, 1996; MATSUSHITA *et al.*, 2003).

Além da relação com a obesidade alguns trabalhos tem sugerido a contribuição na mutação no gene *ADBR3* para o desenvolvimento da resistência à insulina (ERHARDT *et al.*, 2005; OGURI *et al.*, 2013), dislipidemia (KADOWAKI *et al.*, 1995) e síndrome metabólica (ZHO, *et al.*, 2010). Corroborando com o estudo Erhardt *et al.* (2005) avaliaram as possíveis associações entre o polimorfismo Trp64Arg do gene *ADBR3* e algumas variáveis clínicas e metabólicas em crianças húngaras. Os autores concluíram que a frequência do polimorfismo foi semelhante nas crianças saudáveis e obesas; entretanto, a presença do alelo Arg64 foi associada com aumento da adiposidade, elevação da pressão arterial sistólica e concentrações de insulina em jejum.

Em crianças argentinas, Porto *et al.* (2004) avaliaram a relação entre excesso de peso, hipertensão e gordura abdominal com o polimorfismo Trp64Arg no *ADBR3* em 175 crianças, sendo 121 normotensas e 54 hipertensas. Os resultados desse estudo mostraram que não houve nenhuma associação entre a hipertensão, IMC, variáveis metabólicas como Homeostasis Metabolic Assessment (*HOMA*) e perfil de leptina com o polimorfismo Trp64Arg em meninos ou meninas. Apenas a relação cintura/estatura das meninas portadoras do alelo 64Arg apresentaram maiores valores. Baseado neste achado foi sugerido a relação entre a obesidade central e o polimorfismo Trp64Arg no gene *ADBR3*, apenas nas meninas.

Kurokawa *et al.* (2003) investigaram se existia associação entre o polimorfismo Trp64Arg no gene *ADBR3* e o acúmulo de gordura corporal em crianças japonesas. Foram avaliadas as dobras cutâneas tricipital e subescapular de 87 crianças japonesas. Nos resultados não foram encontradas diferenças no percentual de gordura das crianças portadoras da mutação no gene *ADBR3* quando comparadas as do grupo sem a mutação, tanto nas meninas quanto nos meninos. Os autores concluíram que a mutação Trp64Arg no gene *ADBR3* não tem implicação sobre o acúmulo de gordura em crianças japonesas.

Arashiro *et al.* (2003) avaliaram o efeito da mutação Trp64Arg no gene do *ADBR3* em 105 crianças japonesas. Os resultados do estudo sugeriram que a mutação Trp64Arg do gene *ADBR3* pode afetar o IMC e metabolismo do HDL em meninos obesos. Estudo recente com crianças japonesas encontrou relação pressão arterial elevada, valores de LDL-c e triglicérides alterado e a presença do alelo Arg64



em crianças obesas. Nas crianças eutróficas nenhum destes parâmetros diferiram entre os portadores ou não portadores do alelo 64Arg. Os autores concluíram que o polimorfismo Trp64Arg do gene *ADBR3* pode ser associado com a síndrome metabólica (OGURI, TACHI, MATSUOKA, 2013).

A maior parte dos estudos revisados demonstrou discordância na literatura sobre o efeito do polimorfismo *ADBR3* e a maior chance de desenvolver obesidade principalmente na fase da infância. Para entender melhor este mecanismo é importante avaliar qual a influência do polimorfismo em estudos que utilizaram em sua metodologia intervenções com o objetivo de redução do peso por meio de dieta e/ou exercícios físicos.

### 2.2.3 Intervenção multidisciplinar e *ADBR2* e *ADBR3*

O tratamento ou a prevenção da obesidade está diretamente ligado à redução da ingestão calórica e ao aumento do gasto energético. Entretanto, o mecanismo envolvido na resposta a regulação do peso corporal depende de diferenças interindividuais que podem ser influenciadas por fatores genéticos (DERAM e VILLARES, 2009).

Alguns trabalhos com metodologias para a perda de peso utilizando dieta e/ou exercício físico tem relatado resultados divergentes. Alguns trabalhos tem encontrado resistência à perda de peso no grupo que apresenta o alelo 64Arg no gene *ADBR3* (XINXIL *et al.*, 2001; SHIWAKU *et al.*, 2003), entretanto outros estudos não relataram diferenças nas respostas entre os grupos com e sem o polimorfismo Trp64Arg (BEA *et al.*, 2010; GARENC *et al.*, 2001). Com o gene *ADBR2* foram encontrados poucos estudos que utilizaram intervenções com exercício físico e dieta.

Trabalhos que realizaram intervenções com exercício físico e/ou dieta relataram que os indivíduos com o polimorfismo Trp64Arg apresentaram maior resistência à perda de peso (FOGELHOLM *et al.* 1998; SHIWAKU *et al.*, 2003). Porém, outros trabalhos não encontraram os mesmos resultados. Tchernof *et al.* (2000) e Kim *et al.* (2003) não acharam diferenças na perda de peso nos diferentes genótipos após intervenção alimentar.

Alguns trabalhos com obesos utilizaram em sua metodologia apenas redução ou aumento na ingestão calórica por diferentes dietas. A pesquisa de Ukkola, Tremblay e Bouchard (2001) teve por objetivo avaliar o efeito do polimorfismo nos receptores adrenérgicos, sobre a adiposidade, distribuição de gordura e mudanças nos valores de insulina e leptina em resposta a exposição de 100 dias a dieta hipercalórica. Para isso 12 pares de gêmeos, do sexo masculino, foram expostos por 100 dias à superalimentação. Os resultados revelaram que o grupo com o genótipo Gln27Gln no gene *ADBR2* apresentavam maior ganho de peso, aumento nos níveis de leptina e resistência à insulínica. Os autores concluíram que a variação genética do *ADBR2* poderia ser um dos fatores responsáveis pela alta variabilidade nas repostadas interindividuais ao longo da intervenção.

Outra pesquisa com intervenção dietética investigou o papel dos polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu no gene *ADBR2* na composição corporal de 78 mulheres obesas submetidas por 12 semanas à redução calórica de 600kcal. No cálculo da dieta foi estimado o gasto energético avaliando a taxa metabólica de repouso e multiplicado por 1,3 que corresponde ao gasto energético de baixa atividade física. Os resultados deste estudo revelaram que as mulheres portadoras do alelo Glu27 apresentaram maior redução do peso corporal quando comparadas ao grupo sem o alelo Glu27. Contudo a massa gorda, circunferência abdominal e taxa metabólica de repouso diminuíram em ambos os grupos. No polimorfismo Arg16Gly não foram encontradas diferenças entre o grupo com e sem a mutação. Desta forma, o polimorfismo Gln27Glu do gene *ADBR2* parece ter efeito nas respostas sobre o peso corporal e da composição corporal (RUIZ *et al.*, 2011).

Outro estudo com dieta foi realizado por Luis *et al.* (2009), no qual foi avaliada a influencia do polimorfismo Trp64Arg no gene *ADBR3* em 193 indivíduos submetidos a duas diferentes dietas hipocalóricas por dois meses. Os resultados revelaram que em ambas as dietas o grupo sem a mutação apresentou maior redução de peso; já os melhores resultados de redução na glicose, insulina e HOMA ocorreram no grupo mutante.

Tchernof *et al.* (2000) avaliaram o efeito da mutação Trp64Arg no gene *ADBR3* sobre as alterações antropométricas, sensibilidade à insulina e os fatores de risco de doença cardiovascular em resposta à redução de peso. Um total de 24 mulheres submetidas à dieta hipocalórica demonstraram não existir diferenças nos dados iniciais de adiposidade, glicose e perfil lipídico entre o grupo com e sem a

mutação. Após a intervenção, ambos os grupos com e sem a mutação Trp64Arg tiveram reduções semelhantes no peso corporal e gordura corporal. No entanto, a perda de tecido adiposo visceral foi inferior nas portadoras da mutação Trp64Arg. O comportamento da glicose não diferenciou entre os grupos.

Bea *et al.* (2010) avaliaram o papel das mutações nos receptores adrenérgicos sobre a composição corporal após 12 semanas de treinamento de resistência em grupo de mulheres sedentárias pós-menopausa. Participaram deste estudo 148 mulheres, sendo 64 controles e 84 do grupo de exercício. O treino consistiu em 12 meses sendo três sessões por semana. Cada sessão era composta por duas séries de 6-8 repetições em 70-80% de carga máxima. Logo, o efeito do exercício físico na composição corporal ocorreu em todos os genótipos, sugerindo que as diferenças entre os genótipos podem ser mais evidentes na inatividade.

Garenc *et al.* (2001) investigaram a associação entre o polimorfismo Trp64Arg do gene *ADBR3* e as alterações na composição corporal em resposta ao treinamento de resistência. Foi avaliado antes e após 20 semanas de treinamento de resistência o IMC, massa gorda, %G, Massa livre de gordura e soma de oito dobras cutâneas. O programa de treino foi composto por 20 semanas, com sessões três vezes por semana, sendo que cada sessão era composta por 50 min de atividade aeróbia em ciclo ergômetro a intensidade de 55% do  $VO_{2máx}$  e aumentando gradativamente para 75% do  $VO_{2max}$ . Os resultados demonstraram que não houve associação entre o polimorfismo Trp64Arg do gene *ADBR3* e mudanças na composição corporal. Os resultados sugerem que o polimorfismo Trp64Arg não está associado a mudanças na composição corporal em resposta ao exercício de resistência.

Tahara, Osaki e Kishimoto, (2011) avaliaram a influência do Polimorfismo no gene *ADBR3* na melhoria da síndrome metabólica após programa de intervenção com exercício físico. Participaram do estudo 36 homens japoneses a atividade física foi avaliada por meio de pedômetro, com a meta diária de 10.000 passos para cada indivíduo. Nos dados iniciais, os valores de Glicemia, Hemoglobina A1c e insulina foram mais elevadas no grupo Trp64Arg. Após a intervenção, os índices de melhora da glicemia e insulina foram maiores no genótipo Trp64Arg. Assim, os achados do estudo sugeriram que o polimorfismo Trp64Arg pode influenciar nas variáveis da síndrome metabólica.

Shiwaku *et al.* (2003) investigaram a relação entre a perda de peso e intervenções comportamentais, com dieta e atividade física, comparando mulheres com e sem a mutação Trp64Arg. Foram avaliadas 76 mulheres japonesas, deste total, 24 apresentavam excesso de peso e três eram obesas. Durante os três meses de programa as participantes eram incentivadas a percorrer 7000 passos por dia, controlados por pedômetro. Junto ao programa de atividade física as participantes foram orientadas a ingerir alimentação saudável. Após o programa os autores concluíram que as mulheres com a mutação tiveram maior dificuldade na perda de peso. Sendo assim, recomendou-se uma investigação mais aprofundada com programas multidisciplinares com mais intensidade no grau de intervenção comportamental incluindo dietas restritivas em calorias e exercício físico, para melhor compreensão da relação entre o polimorfismo Trp64Arg e perda de peso.

Luis *et al.* (2007) avaliaram a influência do polimorfismo do gene beta 3 adrenérgico em adultos obesos após intervenção com dieta e exercícios aeróbios e constataram que após três meses de intervenção o grupo sem a mutação apresentou melhores resultados em relação ao grupo com a mutação.

Outro estudo que avaliou os alelos Glu12/Glu9 e Gln27Glu no gene *ADBR2* e Trp64Arg no gene *ADBR3* incluiu 70 indivíduos na faixa etária dos 50 aos 75 anos, sendo 29 homens e 41 mulheres, submetidas a tratamento com 24 semanas de exercícios aeróbios (PHARES *et al.*, 2004). Os exercícios eram praticados três vezes por semana com a duração inicial de 20 minutos progredindo para 60 minutos durante as últimas semanas, a intensidade inicial foi de 50% do  $VO_{2max}$  progredindo para 70%  $VO_{2max}$ . Os resultados demonstraram que os polimorfismos no gene *ADRB* estão associados às alterações da gordura corporal em função do treinamento físico. Mas como os polimorfismos nos receptores adrenérgicos alteram as funções fisiológicas ainda está sendo determinada.

Existe controvérsia acerca da associação entre a variante do gene Trp64Arg e obesidade. Porém, até o presente momento não foram encontrados trabalhos que estudaram a influencia das mutações Gln27Glu e Arg16Gly no gene *ADBR2* e Trp64Arg no gene *ADBR3* sobre a perda de peso após intervenção multidisciplinar, com prescrição de exercício físico e orientação nutricional em adolescentes obesos, revelando assim a carência de dados científicos que avaliem a relação entre o polimorfismo no *ADBR2* e *ADBR3* sobre a perda de peso na população infanto-juvenil.

Autor/ano	Gene	Amostra	Intervenção	Resultados
<b>GARENC <i>et al.</i>, 2001</b>	<i>ADBR3</i> (Trp64Arg)	751 homens e mulheres	20 semanas de treinamento aeróbio	Não foi encontrada associação entre o polimorfismo e mudanças na composição corporal nos diferentes grupos com e sem o polimorfismo.
<b>LUIS <i>et al.</i>, 2007</b>	<i>ADBR3</i> (Trp64Arg)	65 obesos (45,8±16,8 anos)	12 semanas com dieta hipocalórica + exercício aeróbio	Este estudo mostrou que a redução do peso após dieta hipocalórica e exercício físico é maior no grupo com o genótipo Trp64Trp no gene <i>ADBR3</i> .
<b>Tahara, Osaki e Kishimoto, 2011</b>	<i>ADBR3</i> (Trp64Arg).	36 japoneses com síndrome metabólica (49±6 anos).	12 semanas - Pedômetro 10.000 passos/dia	Comparando as taxas de melhora, os participantes Trp64Arg apresentaram melhora nas variáveis relacionadas à síndrome metabólica.
<b>RUIZ <i>et al.</i>, 2011</b>	Arg16Gly e Gln27Glu no gene <i>ADBR2</i>	78 mulheres obesas	12 semanas com dieta hipocalórica (redução calórica de 600 kcal no consumo diário)	O polimorfismo Gln27Glu do gene <i>ADBR2</i> parece ter efeito nas respostas sobre o peso corporal e da composição corporal.
<b>LUIS <i>et al.</i> 2009</b>	Trp64Arg no gene <i>ADBR3</i>	193 indivíduos	2 meses – duas dietas hipocalóricas	Em ambas as dietas o grupo sem a mutação apresentaram maior redução de peso, já os melhores resultados na redução da glicose, insulina e HOMA ocorreu no grupo com a mutação Trp64Arg.
<b>TCHERNOF <i>et al.</i>, 2000</b>	Trp64Arg no gene <i>ADBR3</i>	24 mulheres	Dieta	A perda de tecido adiposo visceral foi inferior nas portadoras da mutação Trp64Arg. O comportamento da glicose não diferenciou entre os grupos. Os autores concluíram que a variante Trp64Arg no gene <i>ADBR3</i> influencia a perda de tecido adiposo visceral em resposta à restrição calórica.
<b>BEA <i>et al.</i> (2010)</b>		148 mulheres sedentárias pós-menopausa (64 controles e 84 exercício)	12 semanas de treinamento de musculação	O efeito do exercício físico na composição corporal ocorreu em todos os genótipos, os autores sugeriram que as diferenças entre os genótipos podem ser mais evidentes com a inatividade.
<b>SHIWAKU <i>et al.</i>, 2003</b>	Trp64Arg no gene <i>ADBR3</i>	76 mulheres, deste total 24 apresentavam excesso de peso e três era obesas	Dieta e atividade física (7000 passos por dia)	Os obesos que apresentavam mutação tiveram maior dificuldade na perda de peso

Autor/ano	Gene	Amostra	Intervenção	Resultados
<b>PHARES <i>et al.</i>, 2004</b>	Gln27Glu e Glu12/Glu9 no gene ADBR2 Trp64Arg no gene <i>ADBR3</i>	70 indivíduos na faixa etária dos 50 aos 75 anos	24 semanas de exercícios aeróbios	A resposta da gordura corporal ao treinamento físico em adultos está associada com os efeitos combinados dos genes Glu12/Glu9 $\alpha 2b$ - <i>ADR</i> , ADBR3 (Trp64Arg) e ADBR2 (Gln27Glu).
<b>Xinli <i>et al.</i>, 2001</b>	Trp64Arg no gene <i>ADBR3</i>	47 crianças obesas com idades entre 8-11 anos (36 - grupo exercício e 11 - grupo controle)	Dieta	Após 3 meses de intervenção dietética o grupo que não participou da intervenção (controle) apresentaram aumentos valores de peso e IMC semelhante ao que o grupo portador da mutação Trp64Arg, (aumento de aproximadamente 1,5kg/m <sup>2</sup> no IMC), o grupo sem a mutação o aumento foi de 0,47kg/m <sup>2</sup> no IMC.

QUADRO 2.3 – RESUMO DOS ESTUDOS COM INTERVENÇÕES EM GRUPOS COM E SEM O POLIMORFISMO NOS RECEPTORES  $\beta$ -ADRENÉRGICOS

### 3 ESTUDO 1: POLIMORFISMO NOS RECEPTORES BETA 2 E 3 ADRENÉRGICO E PERFIL METABÓLICO EM ADOLESCENTES

#### 3.1 INTRODUÇÃO:

A obesidade é considerada síndrome multifatorial influenciada por fatores genéticos e ambientais (ARASHIDO *et al.*, 2003; MATTEVI, ZEMBRZUSKI, HUTZ, 2006). Os fatores ambientais são apontados pela ingestão inadequada de alimentos com baixa qualidade nutricional e alto teor calórico (MEHTA, CHANG, 2008), além do aumento do sedentarismo (DEFORCHE *et al.*, 2003). A influência genética na obesidade tem sido investigada e existem centenas de genes que estão relacionados ao aumento de peso (BOUCHARD *et al.*, 2004). Entre os genes, destacam-se os receptores  $\beta$ -adrenérgicos (ADRB2 e ADRB3) associados à mobilização de lipídios por meio da ativação da lipólise (WALSTON *et al.*, 2003; MATTEVI *et al.*, 2006) e controle do gasto energético (MARQUES-LOPES *et al.*, 2004).

Polimorfismos nos genes dos receptores  $\beta$ -adrenérgicos, como a mutação do receptor  $\beta$ 3 (ADRB3) localizado no códon 64 (Trp64Arg; rs 4994) e do receptor  $\beta$ 2 (ADRB2) nas posições 16 (Arg16Gly; rs1042713) e 27 (Gln27Glu; rs1042714) têm sido associados com a obesidade e fatores ligados ao aumento de peso corporal como alterações na pressão arterial, valores de glicose e lipídios (CORELLA *et al.*, 2001; CHOU *et al.*, 2012; DAGHESTANI *et al.*, 2012; ELLSWORTH *et al.*, 2002).

Em adultos, o aumento de peso, índice de massa corporal e circunferência abdominal foram relacionados com o alelo 16gly no receptor ADRB2 (ELLSWORTH *et al.* 2002; MATTEVI *et al.*, 2006) e encontrada associação significativa do alelo glu27 com risco de obesidade em meninas (OCHOA *et al.*, 2006). Pesquisas revelaram que indivíduos com a mutação Trp64Arg no gene *ADRB3* tiveram maior peso (CLÈMENT *et al.* 1995; FUJISAWA *et al.*, 1998), principalmente pelo aumento na massa de gordura (DIONNE *et al.*, 2001). Entretanto, outros estudos não encontraram relação entre o polimorfismo Trp64Arg e obesidade (BÜETTENR *et al.*, 1996) ou dificuldades na redução de peso (MATSUSHITA *et al.* 2003).

Na infância, poucos estudos avaliaram a associação da obesidade e a mutação no gene *ABDR*. Chou *et al.* (2012) sugerem que a mutação Arg16Gly do gene *ADRB2* associa-se com a obesidade nas meninas, enquanto as mutações Gln27Glu no *ADBR2* e Trp64Arg no *ADBR3* não foram associadas ao peso elevado. Outro estudo que relacionou os polimorfismos nos receptores *ADBR2* e *ADBR3* não encontrou relação com a obesidade na infância (TAFEL *et al.*, 2004). Poucos trabalhos verificaram o efeito das mutações nos receptores *ADRB2* e *ADRB3* nas respostas das variáveis antropométricas, cardiorrespiratórias e metabólicas em crianças e adolescentes obesos, demonstrando uma carência de dados.

### 3.2 OBJETIVOS

O objetivo deste estudo foi avaliar a frequência do polimorfismo gene *ADBR2* e *ADBR3* em crianças e adolescentes com excesso de peso e sua relação com variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas.

#### 3.2.1 Objetivos específicos

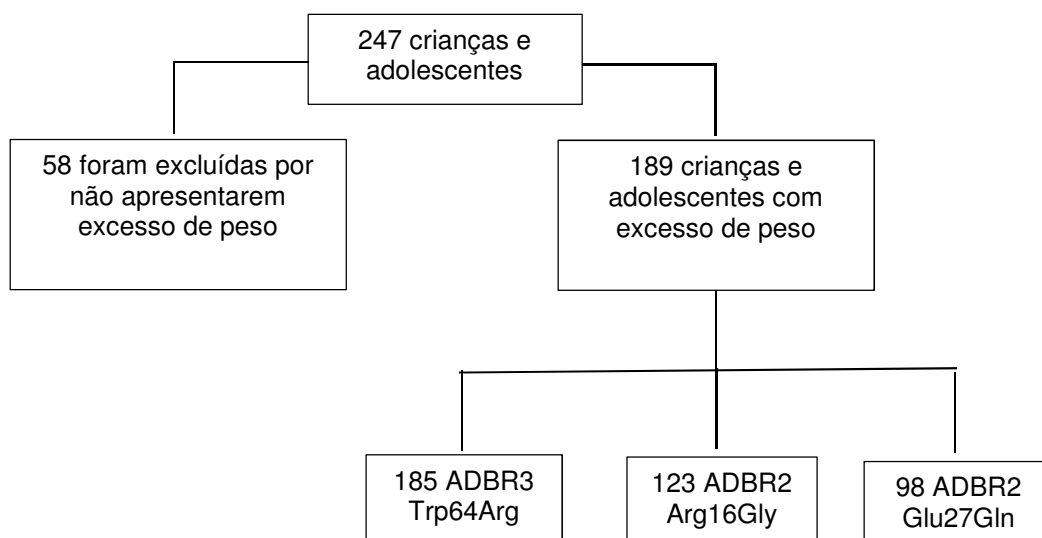
- Estimar a frequência dos polimorfismos Trp64Arg do gene *ADBR3*, Arg16Gly e Gln27Glu do gene *ADBR2* em crianças e adolescentes com excesso de peso.
- Investigar se existe diferença nas variáveis antropométricas, pressóricas, cardiorrespiratória e metabólica (glicemia e perfil lipídico) entre o grupo com e sem a mutação nos genes *ADBR2* (Arg16Gly, Gln27Glu) e *ADBR3* (Trp64Arg).



### 3.3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.3.1 Participantes

A pesquisa foi desenvolvida em crianças e adolescentes de 10 a 16 anos de idade, de ambos os sexos, provenientes de escolas municipais e estaduais de Curitiba – PR e da Unidade de Endocrinologia Pediátrica (UEP) do Hospital de Clínicas do Paraná. A amostra foi composta por 247 crianças e adolescentes, sendo 123 meninas e 124 meninos. Os critérios de inclusão ao programa foram presença de excesso de peso e liberação médica para realizar teste cardiorrespiratório. O estudo foi aprovado no Comitê de Ética do Setor de Biológicas da UFPR, sob o número sob o número CEP – 05/09, atendendo a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde sobre pesquisa envolvendo seres humanos (ANEXO 1). Os pais e responsáveis dos participantes do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE 1), após o esclarecimento detalhado das finalidades da pesquisa. O desenho do estudo encontra-se a seguir:



### 3.3.2 Avaliação Antropométrica

A estatura foi avaliada em estadiômetro de parede, com resolução de 0,1 cm, e o peso foi mensurado utilizando balança antropométrica (*Filizola®*) com resolução de 100 g. A partir dessas duas variáveis, calculou-se o índice de massa corporal (IMC). Para o diagnóstico de excesso de peso classificou-se o IMC por meio do Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2000, ANEXO 2 e 3). Para o cálculo do IMC-escore Z, utilizou-se o programa WHO AnthroPlus disponibilizados no site do CDC, para cada faixa etária e gênero. As técnicas utilizadas para a obtenção das medidas antropométricas foram realizadas conforme o *Anthropometric Standardization Reference Manual* (LOHMAN, ROCHE, MARTOREL, 1988).

A circunferência abdominal (CA) foi mensurada em cm, com fita flexível e inextensível, com resolução de 0,1 cm. A fita métrica foi aplicada sobre a pele, imediatamente acima da crista ilíaca e paralela ao solo, tendo a crista ilíaca direita como referência (FERNANDEZ *et al.*, 2004). A mensuração foi realizada ao final de uma expiração normal, com o abdome relaxado, estando o indivíduo em pé, com os braços ao longo do corpo e os pés unidos. Para a classificação da CA considerou-se como limítrofes ou aumentados os valores acima ou iguais ao 75º percentil, para idade e sexo (FERNÁNDEZ *et al.*, 2004 – ANEXO 4).

### 3.3.3 Avaliação clínica:

A pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) foi aferida após 10 minutos de repouso, estando o paciente sentado e com o braço direito apoiado no nível cardíaco. Utilizou-se esfigmomanômetro de mercúrio, do tipo aneroide, previamente calibrado conforme o INMETRO, com o tamanho do manguito adequado ao perímetro do braço do indivíduo. Foram obtidas três medidas com intervalo de dois minutos entre elas, utilizando-se a média das duas últimas medidas para a análise dos níveis pressóricos. Foram considerados como limítrofes ou aumentados, os valores iguais ou superiores ao percentil 90º, para idade, gênero e percentil de estatura para crianças e adolescentes (THE FOURTH REPORT ON

THE DIAGNOSIS, EVALUATION AND TREATMENT OF HIGH BLOOD PRESSURE IN CHILDREN AND ADOLESCENTS, 2004; ANEXO 5 e 6).

A avaliação do estadiamento puberal foi realizada por avaliação da maturação sexual, realizou-se a auto-avaliação do estágio puberal por desenvolvimento da pilificação pubiana (TANNER, 1986, ANEXO 7). A avaliação foi de forma indireta, individualizada e de por pesquisadores do mesmo sexo do avaliado. Considerados pré-púberes a ausência de pilificação (P1), púberes, a pilificação entre P2 e P4, e como pós-púberes, o estágio P5. Para a classificação do estágio pós-puberal nas meninas, considerou-se, prioritariamente, o relato de menarca.

#### 3.3.4 Exames laboratoriais:

As amostras sanguíneas foram coletadas no período da manhã, após 12 horas de jejum, para a realização das análises das concentrações de glicose, colesterol total (CT), HDL, LDL e triacilglicerol (TG). Os níveis de glicemia foram determinados com o método enzimático (Glicose Oxidase – Labtest).

As concentrações plasmáticas de CT, TG e de HDL-colesterol foram determinadas em mg/dl, foi utilizado o teste colorimétrico enzimático (CHOD – PAP) (Laboratório Merck, Darmstadt, Alemanha; Laboratório Roche, Indianápolis, IN, EUA). O LDL colesterol foi calculado pela fórmula de Friedewald (CORDOVA *et al.*, 2004).

Os valores de referência para lipídios foram os apresentados na I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na Infância e na Adolescência (SBC, 2005). Foram considerados alterados os valores para CT superiores a 170mg/dL, para LDL-C e TG superiores a 130mg/dL e para HDL-C inferiores a 45mg/dL.

#### 3.3.5 Análises Genéticas:

Utilizou-se o *Mini Kit DNAmp* (Qiagen) para a extração de DNA do plasma em 83 indivíduos. Depois de extração de DNA, as amostras foram secas e

ressuspensas em 50 µl de água milli-Q até atingir a concentração final 20ng/µl. Para o restante das 164 amostras, o DNA foi extraído pelo método de LAHIRI e NURNBERGER (1991; APÊNDICE 2) e diluída até a concentração final 20ng/µl.

Para a genotipagem das variantes dos genes ADBR2 e ADBR3 foi utilizado o método de genotipagem por Taqman utilizando o aparelho de PCR em Tempo Real (*Realplex*). Para este protocolo de genotipagem foi realizada a amplificação com os seguintes passos: 1º passo de 2 minutos a 50°C; 2º passo de 10 minutos a 95°C; 3º passo repetido 50 vezes de 15 segundos a 95°C intercalados por 60 segundos a 62°C. Após a leitura e análise dos dados gerados foi construído um gráfico representativo de dispersão (XY) para separação FAM-VIC e determinação do genótipo de cada indivíduo. Para as amostras de plasma foi elevado o valor de DNA por poço na placa (de 2µ para 4µl) para aumentar o valor dos picos das leituras e as escalas foram mais ampliadas para facilitar a separação dos genótipos. O equipamento utilizado foi da Eppendorf, Matercycler Realplex 2 e o Kit de genotipagem *TaqMan SNP* da Applied Biosystems.

### 3.3.6 Avaliação da aptidão cardiorrespiratória

A aptidão cardiorrespiratória foi avaliada em esteira (marca Ecafex EG 700X) por meio de analisador de gases (ergoespirométrico marca Parvo Medics MMS2400, USA).

O teste ergométrico foi realizado em esteira, antes de iniciar os testes, os indivíduos avaliados utilizavam o ergômetro, durante um minuto, para familiarização no equipamento e aquecimento muscular. Durante os testes, a FC foi avaliada com um frequencímetro (Polar- A1) em intervalos de 30 segundos no teste de esteira.

O protocolo utilizado foi o de Balke modificado, mantendo a velocidade fixa em 3,25 mph e inclinação de 6%, com incremento de 2% a cada 3 minutos, até o esforço máximo (ROWLAND; VARZEUS; WALSH, 1991)

O teste foi considerado máximo quando os seguintes critérios foram observados: a) exaustão ou incapacidade para manter a velocidade requerida; b) RER  $\geq 1,0$ . A determinação do  $VO_{2max}$  foi estabelecida por das médias dos três maiores valores seguidos obtidos durante o teste máximo (MILANO, LEITE, 2009).

### 3.3.7 Análise Estatística

Para análise descritiva das variáveis foram utilizados os procedimentos de média, desvio-padrão e frequência. Para verificar a normalidade dos dados dos o Teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado, na ausência de normalidade foi utilizado teste estatístico não paramétrico. O Teste T foi utilizado avaliar as diferenças entre características clínicas, antropométricas e laboratoriais entre os gêneros e os grupos com e sem a mutação estudada. Para os dados não paramétricos utilizou-se o teste de Mann-Whitney para a comparação das médias entre os grupos.

O Teste Qui-quadrado foi aplicado para a comparação da distribuição genotípica e classificação dos dados. Para estimar as relações entre as variáveis foi realizada Regressão Múltipla.

Os testes estatísticos tiveram nível de significância de  $p < 0,05$  e foram realizados utilizando o programa estatístico *Statistica v.7.0 (Statsoft)*.

### 3.4 RESULTADOS

#### 3.4.1 Resultados gerais

Neste estudo foram avaliados 189 crianças e adolescentes, sendo 98 meninos e 91 meninas. Na avaliação da maturação sexual, foi identificado que 12,33% estavam no estágio pré-púbere, 87,67% no púbere ou pós-púbere, não houve diferença nas variáveis antropométricas, cardiorrespiratórias, metabólica e de perfil lipídico entre os estágios puberais, apenas a idade diferiu entre os grupos, os pré-púberes apresentaram idade menores. Ao comparar meninos e meninas, a média IMC-ESCORE Z e o  $VO_{2max}$  foram mais elevados nos meninos. A comparação dos valores médios e desvio-padrão (DP) das variáveis antropométricas, pressóricas e parâmetros laboratoriais entre meninos e meninas são apresentadas na Tabela 3.1.

TABELA 3.1 – COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS E DESVIOS-PADRÃO DAS VARIÁVEIS ANTROPOMÉTRICAS, PRESSÓRICAS E METABÓLICAS EM MENINOS E MENINAS

	MENINAS		MENINOS		p
	M	DP	M	DP	
IDADE (anos)	12,61	± 1,95	12,92	± 1,68	ns
IMC-score Z	2,64	± 0,67	3,11	± 1,07	0,0001
CA (cm)	98,61	± 12,55	98,91	± 12,58	ns
PAS (mmHg)	106,19	± 14,35	109,47	± 13,24	ns
PAD (mmHg)	69,00	± 10,79	69,40	± 12,20	ns
CT (mg/dl)	165,52	± 38,43	165,77	± 33,78	ns
HDL-C (mg/dl)	44,40	± 8,45	45,46	± 9,16	ns
LDL-C (mg/dl)	98,62	± 33,92	94,10	± 28,86	ns
TG (mg/dl)	118,89	± 68,56	123,44	± 66,33	ns
GLI (mg/dl)	88,18	± 8,67	90,43	± 8,23	ns
$VO_{2max}$ (ml/kg/min)	31,00	± 4,56	34,20	± 6,62	0,01

CA: circunferência abdominal, PAS: Pressão Arterial Sistólica, PAD: Pressão Arterial Diastólica, CT: colesterol total, TG: Triglicerídeos, GLI: glicemia basal,  $VO_{2max}$ : volume máximo de oxigênio.

### 3.4.2 Comparação das frequências genotípicas

Considerando que meninos e meninas mostraram frequências alélicas e genotípicas semelhantes para as três variantes analisadas, os adolescentes foram considerados como um grupo independente do sexo. A frequência dos genótipos dos genes *ADBR3* (Trp64Arg), *ADBR2* (Arg16Gly) e *ADBR2* (Gln27Glu) constam na tabela 1.

TABELA 3.2- VALORES DE FREQUÊNCIA GENOTÍPICA E ALÉLICA DOS GENES *ADBR3* (TRP64ARG), *ADBR2* (ARG16GLY) E *ADBR2* (GLN27GLU)

	N	Frequência Genotípica			Frequência Alélica	
		11	12	22	1	2
<i>ADBR3</i>	185	78,39%	17,84%	3,78%	87,3% ± 1,5%	12,7% ± 1,5%
(Trp64Arg)		(145)	(33)	(7)	(323)	(47)
<i>ADBR2</i>	123	21,14%	35,77%	43,09%	39% ± 2,49	61% ± 2,49%
(Arg16Gly)		(26)	(44)	(53)	(96)	(150)
<i>ADBR2</i>	98	50,00%	26,53%	23,47%	63,3% ± 2,71	36,7% ± 2,71%
(Gln27Glu)		(49)	(26)	(23)	(124)	(72)

11 homozigoto para o primeiro alelo; 12 heterozigoto; 22 homozigoto para o segundo alelo.

### 3.4.3 Resultados do efeito da mutação Trp64Arg no gene *ADBR3* sobre as variáveis antropométricas, cardiorrespiratória e metabólica.

Na comparação das variáveis entre o grupo com e sem a mutação no gene *ADBR3*, foi necessário unir o grupo heterozigoto e homozigoto portadores do alelo 64Arg (Trp64Arg + Arg64Arg). Os valores de IMC-score Z, CA, PAS, PAD, CT, HDL-c, LDL-c, TG, GLI e  $VO_{2max}$  apresentaram valores semelhantes entre os grupos com e sem a mutação Trp64Arg no gene *ADBR3* (TABELA 3.3).

TABELA 3.3 – COMPARAÇÃO DAS MEDIAS E DESVIO-PADRÕES DAS VARIÁVEIS ANTROPOMÉTRICAS, CARDIORRESPIRATÓRIA E METABÓLICA ENTRE OS GRUPOS COM E SEM A MUTAÇÃO *ADBR3* (TRP64ARG)

	Trp64Trp		Trp64Arg + Arg64Arg		P
	M	EP	M	DP	
<b>IMC-score Z</b>	2,89 ± 0,99		2,92 ± 0,67		ns
<b>CA (cm)</b>	98,62 ± 12,84		100,60 ± 10,90		ns
<b>PAS (mmHg)</b>	108,14 ± 14,09		107,42 ± 13,57		ns
<b>PAD (mmHg)</b>	69,10 ± 12,04		69,68 ± 9,52		ns
<b>CT (mg/dl)</b>	166,25 ± 36,36		163,89 ± 35,32		ns
<b>HDL-C (mg/dl)</b>	44,96 ± 8,72		45,09 ± 9,34		ns
<b>LDL-C (mg/dl)</b>	97,97 ± 32,46		91,16 ± 28,19		ns
<b>TG (mg/dl)</b>	117,43 ± 63,00		136,21 ± 77,75		ns
<b>GLI (mg/dl)</b>	89,602 ± 8,63		88,43 ± 7,97		ns
<b>VO<sub>2max</sub> (ml/kg/min)</b>	32,63 ± 6,02		32,73 ± 5,59		ns

CA: circunferência abdominal, PAS: Pressão Arterial Sistólica, PAD: Pressão Arterial Diastólica, CT: colesterol total, TG: Triglicerídeos, GLI: glicemia basal, VO<sub>2max</sub>: volume máximo de oxigênio.

Ao classificar as variáveis de acordo com idade e gênero, não houve diferença na distribuição das variáveis adequadas e alteradas entre os grupos com e sem a mutação no gene *ADBR3*. O grupo com o genótipo Trp64Trp apresentou valores de circunferência abdominal (CA) elevados em 98% da amostra e em 100% do grupo portador do alelo 64Arg. A PAS e PAD estavam elevadas em 12% e 22%, respectivamente, do grupo Trp64Trp. No grupo portador do alelo 64Arg 17% apresentam valores de PAS e PAD elevados (FIGURA 3.1).

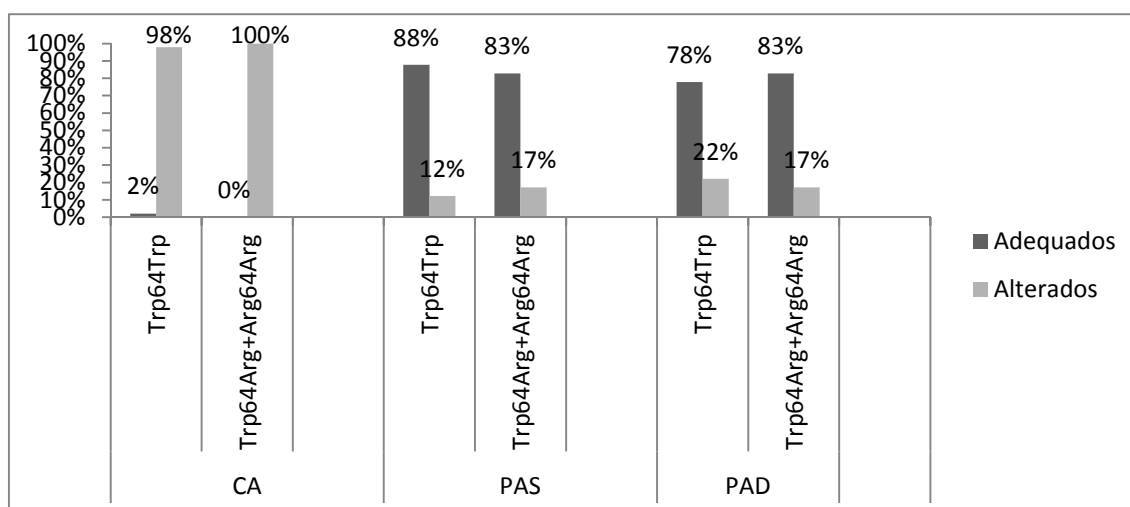


FIGURA 3.1 – DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL DAS ALTERAÇÕES DAS VARIÁVEIS PRESSÓRICAS E CIRCUNFERÊNCIA ABDOMINAL POR GENÓTIPO DO GENE *ADBR3*



As distribuições percentuais do perfil lipídico e valores de glicemia classificados como adequadas e alteradas foram semelhantes entre os grupos com e sem o polimorfismo no gene *ADBR3* (Trp64Arg). O CT estava elevado em 42% do grupo com o genótipo Trp64Trp, e em 45% dos portadores do alelo 64Arg. O HDL foi classificado como baixo em 53% e 55% dos portadores do genótipo Trp64trp e 64Arg, respectivamente. O LDL estava elevado em 13% no grupo Trp64Trp e 10% nos portadores do alelo 64Arg. Os valores de TG estavam elevados em 34% no grupo Trp64Trp e 33% nos portadores do alelo 64Arg. A Glicemia estava alterada em 10% no grupo Trp64Trp e 11% nos portadores do alelo 64Arg (FIGURA 3.2).

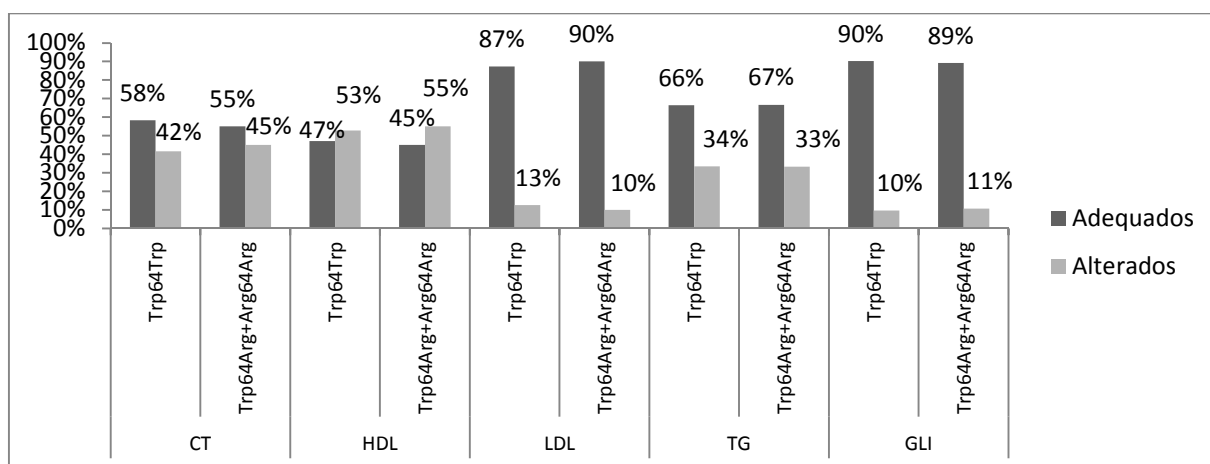


FIGURA 3.2 – DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL DAS ALTERAÇÕES NO PERFIL LIPÍDICO E GLICEMIA POR GENÓTIPO DO GENE *ADBR3*

#### 3.4.4 Resultados do efeito da mutação Arg16Gly no gene *ADBR2* sobre as variáveis antropométricas, cardiorrespiratória e metabólica.

Para as comparações das variáveis a amostra foi dividida em dois grupos, um grupo sem a mutação (Arg16Arg) e o grupo portador da mutação (Arg16Gly + Gly16Gly). Os valores de IMC-escore Z, CA, PAS, PAD, CT, HDL-c, LDL-c, TG, GLI e  $VO_{2máx}$  foram semelhantes entre o grupo com e sem a mutação 16Gly no gene *ADBR2* (TABELA 3.4).

TABELA 3.4 – COMPARAÇÃO DAS MEDIAS E DESVIO-PADRÕES ENTRE AS VARIÁVEIS ANTROPOMÉTRICAS, CARDIORRESPIRATÓRIA E METABÓLICA NOS GRUPOS COM E SEM A MUTAÇÃO ADBR2 (ARG16GLY)

	Arg16Arg (n=25)		Arg16Gly + Gly16Gly (n=120)		p
	M	EP	M	DP	
<b>IMC-score Z</b>	2,68 ± 0,58		2,92 ± 1,54		ns
<b>CA (cm)</b>	98,24 ± 11,38		98,96 ± 12,48		ns
<b>PAS (mmHg)</b>	111,69 ± 12,25		106,68 ± 13,49		ns
<b>PAD (mmHg)</b>	70,21 ± 16,80		69,17 ± 10,58		ns
<b>CT (mg/dL)</b>	162,54 ± 37,97		163,15 ± 33,09		ns
<b>HDL-C (mg/dL)</b>	45,77 ± 7,64		45,74 ± 9,30		ns
<b>LDL-C (mg/dL)</b>	93,24 ± 29,45		91,94 ± 9,30		ns
<b>TG (mg/dL)</b>	122,13 ± 80,90		123,96 ± 67,56		ns
<b>GLI (mg/dL)</b>	90,71 ± 6,76		88,76 ± 9,15		ns
<b>VO<sub>2max</sub> (ml/kg/min)</b>	33,86 ± 3,97		32,00 ± 6,27		ns

CA: circunferência abdominal, PAS: Pressão Arterial Sistólica, PAD: Pressão Arterial Diastólica, CT: colesterol total, TG: Triglicerídeos, GLI: glicemia basal, VO<sub>2max</sub>: volume máximo de oxigênio.

As distribuições percentuais entre os grupos com e sem o polimorfismo não diferiram. A circunferência abdominal (CA) estava elevada em 100% do grupo com o genótipo Arg16Arg; no grupo portador do polimorfismo 16Gly 97% dos avaliados apresentaram valores de CA elevados. A PAS e PAD estavam alteradas em 13% e 29%, respectivamente, do grupo Arg16Arg. No grupo portador do alelo 16Gly, 11% e 20% apresentam valores de PAS e PAD elevados (FIGURA 3.3).

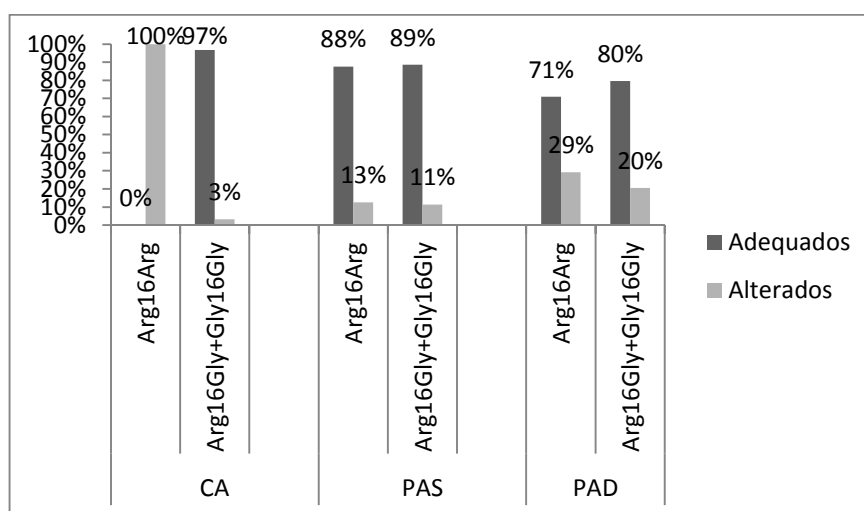


FIGURA 3.3 – DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL DAS ALTERAÇÕES DAS VARIÁVEIS PRESSÓRICAS E CIRCUNFERÊNCIA ABDOMINAL POR GENÓTIPO DO GENE ADBR2 (ARG16GLY)

Os valores de CT estavam elevados em 36% do grupo com o genótipo Arg16Arg; 38% dos portadores do polimorfismo 16Gly. O HDL foi baixo em 44% e 54% nos grupos Arg16Arg e portador do alelo 16Gly, respectivamente. O LDL estava elevado em 12% do grupo Arg16Arg e 7% dos portadores do polimorfismo 16Gly. Os valores de TG estavam elevados em 28% no grupo Arg16Arg e 35% dos portadores do polimorfismo 16Gly. A glicemia estava alterada em 4% no grupo homozigoto para o alelo Arg16Arg e 11% no portador do alelo 16Gly (FIGURA 3.4).

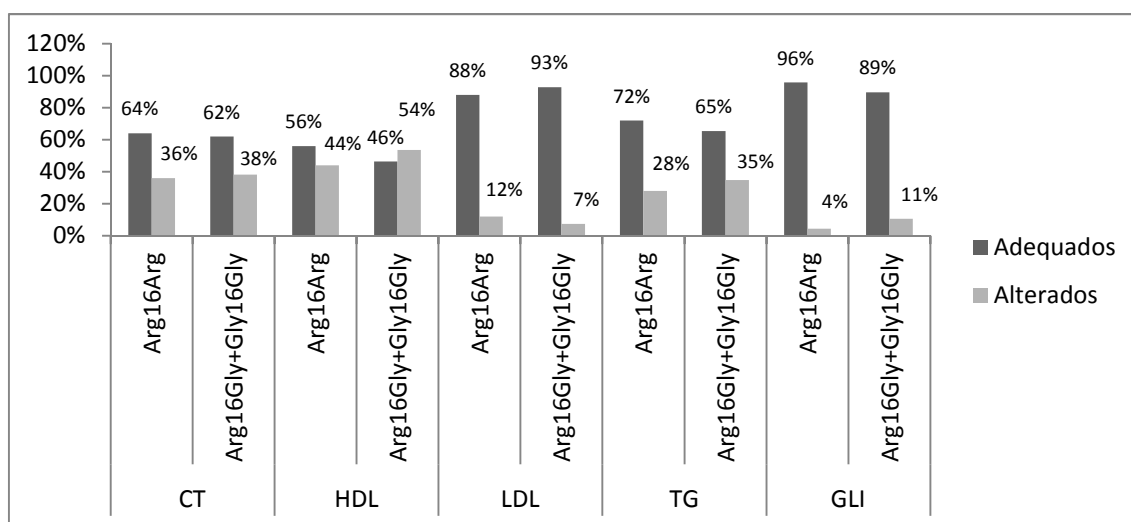


FIGURA 3.4 – DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL DAS ALTERAÇÕES NO PERFIL LIPÍDICO E GLICEMIA POR GENÓTIPO DO GENE *ADBR2* (ARG16GLY)

#### 3.4.5 Resultados do efeito da mutação Gln27Glu no gene *ADBR2* sobre as variáveis antropométricas, cardiorrespiratória e metabólica.

Para as comparações das variáveis a amostra foi dividida em dois grupos, um grupo sem a mutação (Gln27Gln) e o grupo portador da mutação (Gln27Glu + Glu27Glu). Ao comparar as médias das variáveis estudadas apenas os valores de TG foram mais elevados no grupo portador do alelo 27Gln quando comparado a grupo com o genótipo Gln27Glu do gene *ADBR2*. Os valores de IMC score-Z, CA, CT, HDL-c, LDL-c, GLI e  $VO_{2máx}$  foram semelhantes entre o grupo com e sem a do alelo 27Glu no gene *ADBR2* (TABELA 3.6).

TABELA 3.6 – COMPARAÇÃO DAS MEDIAS E DESVIO-PADRÕES DAS VARIÁVEIS ANTROPOMÉTRICAS, CARDIORRESPIRATÓRIA E METABÓLICA NOS GRUPOS COM E SEM A MUTAÇÃO GLN27GLU DO GENE *ADBR2*

	Gln27Gln		Gln27Glu + Glu27Glu		p
	M	EP	M	DP	
<b>IMC-score Z</b>	2,88 ± 0,90		2,73 ± 0,86		ns
<b>CA (cm)</b>	98,59 ± 11,69		98,14 ± 12,85		ns
<b>PAS</b>	107,48 ± 14,31		109,22 ± 12,48		ns
<b>PAD</b>	70,60 ± 9,29		69,27 ± 9,90		ns
<b>CT (mg/dL)</b>	164,25 ± 37,77		169,82 ± 32,51		ns
<b>HDL-C (mg/dL)</b>	44,81 ± 9,15		45,97 ± 9,83		ns
<b>LDL-C (mg/dL)</b>	98,03 ± 33,27		96,86 ± 29,96		ns
<b>TG (mg/dL)</b>	107,70 ± 65,30		136,65±70,22		0,04
<b>GLI (mg/dL)</b>	88,74 ± 9,17		88,33± 8,17		ns
<b>VO<sub>2max</sub> (ml/kg/min)</b>	30,92 ± 5,55		34,99 ± 8,17		0,02

CA: circunferência abdominal, PAS: Pressão Arterial Sistólica, PAD: Pressão Arterial Diastólica, CT: colesterol total, TG: Triglicerídeos, GLI: glicemia basal, VO<sub>2max</sub>: volume máximo de oxigênio.

As distribuições percentuais entre os grupos com e sem o polimorfismo não diferiram. Os valores de circunferência abdominal (CA) estavam elevados em 98% do grupo com o genótipo Gln27Gln; no grupo portador do alelo 27Glu 94% dos avaliados apresentaram valores de CA elevados. A PAS e PAD estavam alteradas em 12% e 24%, respectivamente, do grupo Gln27Gln. No grupo portador do alelo 27Glu 18% e 22% apresentam valor de PAS e PAD elevados (FIGURA 3.5).

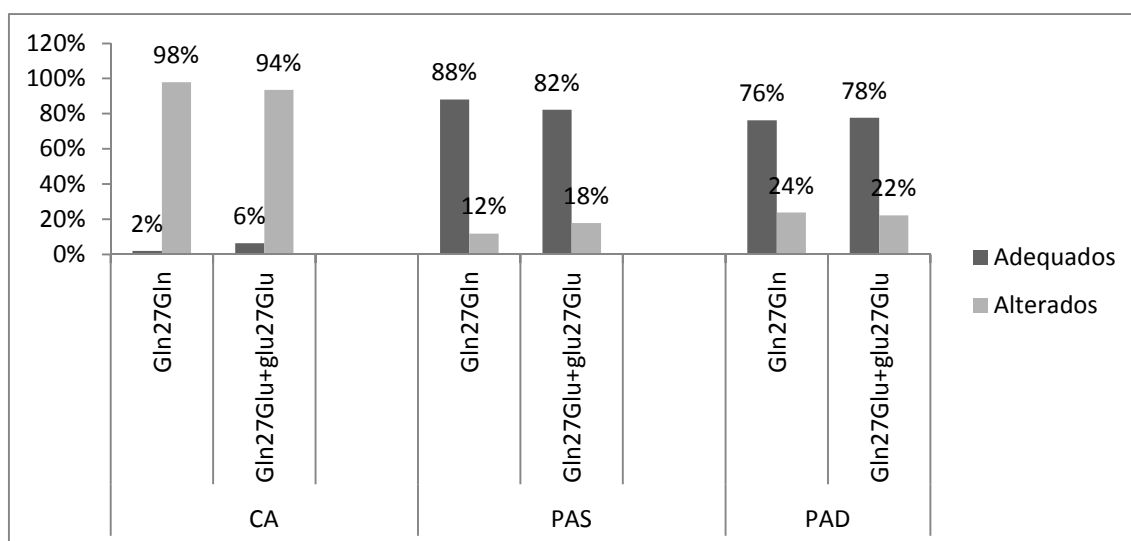


FIGURA 3.5 – DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL DAS ALTERAÇÕES DAS VARIÁVEIS PRESSÓRICAS E CIRCUNFERÊNCIA ABDOMINAL POR GENÓTIPO DO GENE *ADBR2* (GLN27GLU)

Os valores de CT estavam elevados em 46% do grupo com o genótipo Gln27Gln; 58% dos portadores do alelo 27Glu apresentaram valores de CT elevado. O HDL está alterado em 53% do grupo com o genótipo Gln27Gln e em 50% dos portadores do alelo 27Glu. O LDL estava elevado em 10% do grupo Gln27Gln e 15% nos portadores do alelo 27Glu. Os valores de TG estavam elevados em 33% do grupo Gln27Gln e 36% dos portadores do alelo 27Glu. A glicemia estava alterada em 8% no grupo homozigoto para o alelo 27Gln e 13% no portador do alelo 27Glu (FIGURA 3.6).

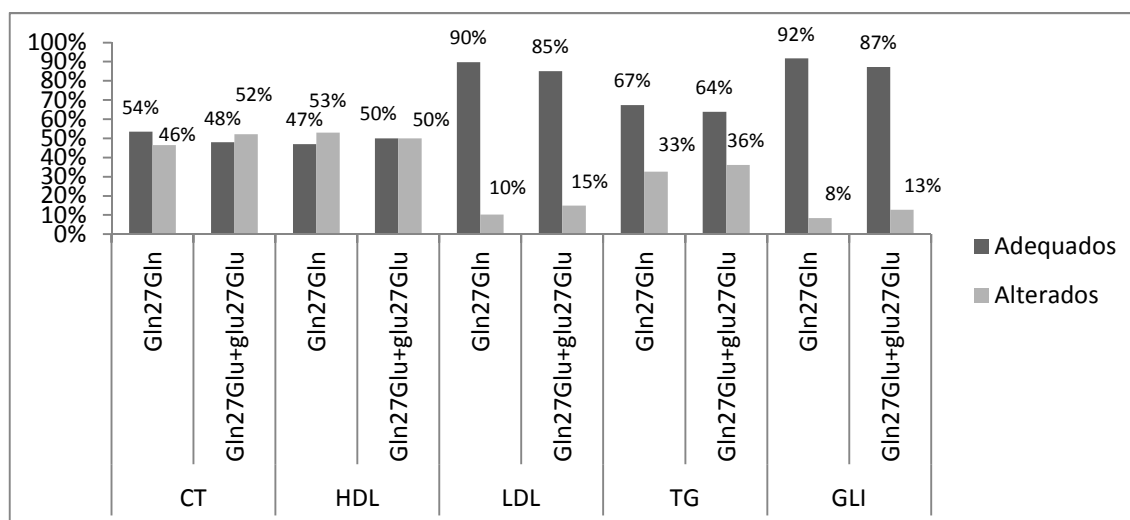


FIGURA 3.6 – DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL DAS ALTERAÇÕES NO PERFIL LIPÍDICO E GLICEMIA POR GENÓTIPO DO GENE *ADBR2* (GLN27GLU)

Para avaliar o potencial papel de genes *ADBR2* e *ADBR3* na Glicemia foi realizada uma regressão logística stepwise em que sexo, idade, IMC-escore Z, o polimorfismo Arg16Gly e Gly27Glu do gene *ADBR2* e Trp64Arg do gene *ADBR3* foram as variáveis independentes. Os resultados mostraram que apenas o polimorfismo Glu27Gln no gene *ADRB2* (Beta =  $-0,279 \pm 0,107$ ,  $p = 0,01$ ) influenciou significativamente a Glicemia. O TG também avaliado por meio de uma regressão logística stepwise em que sexo, idade, o polimorfismo Arg16Gly e Gln27Glu do gene *ADBR2* e Trp64Arg do gene *ADBR3* foram as variáveis independentes. Os resultados mostraram que apenas o polimorfismo Gln27Glu no gene *ADRB2* influenciou os valores de TG (Beta =  $0,233 \pm 0,107$ ,  $p = 0,03$ ).

### 3.5 DISCUSSÃO:

Este estudo avaliou a frequência dos polimorfismos no receptor ADBR2 (Arg16Gly e Gly27Glu) e ADBR3 (Trp64Arg) e a sua relação com as variáveis metabólicas, cardiorrespiratórias e antropométricas em adolescentes. Os genótipos referentes aos alelos Trp64Arg do gene *ADBR3* e Arg16Gly e Gly27Glu do gene *ADBR2* não estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

#### 3.5.1 Mutação Trp64Arg no gene *ADBR3*

O primeiro estudo avaliou o efeito do polimorfismo Trp64Arg no receptor ADBR3 sobre a presença de obesidade relatou que a capacidade de aumentar o IMC era superior nos pacientes que eram heterozigotos para a mutação estudada (CLEMENT 1995). Em adultos japoneses foi encontrada associação entre valores de IMC elevado e o polimorfismo Trp64Arg no receptor *ADBR3* (KUOKAWA *et al.*, 2008). Discordando destes achados, em brasileiros não foi encontrada relação entre o polimorfismo Trp64Arg no gene *ADBR3* e aumento nos valores de IMC (MATTEVI *et al.*, 2006).

Na população infanto-juvenil foram encontrados poucos estudos que avaliaram o efeito da mutação no gene *ADBR3* (Trp64Arg) nas variáveis antropométricas. Um dos trabalhos foi realizado em crianças húngaras e encontrou valores de IMC mais elevados nas crianças com a mutação Trp64Arg do gene *ADBR3* (ERHARDT *et al.*, 2005). Outros dois trabalhos realizados em crianças asiáticas não verificaram relação entre o aumento do IMC e da circunferência abdominal com o variante Trp64Arg no gene *ADBR3* (XINLI *et al.*, 2001; CHOU *et al.*, 2012) Corroborando com esses achados de Xinli *et al.* (2001) e Chou *et al.* (2012), no presente estudo não foram encontradas diferenças nos valores de IMC-score Z e CA entre o grupo com e sem a mutação (Trp64Trp) no gene ADBR3.

Vários trabalhos tem abordado a associação entre os polimorfismos no gene *ADBR3* (Trp64Arg) e alterações no perfil lipídico e metabólico, contudo os resultados são muito controversos. Arashido *et al.* (2003) avaliaram 105 crianças obesas e encontraram em seus resultados que os meninos obesos com a mutação Trp64Arg apresentaram maior IMC-escore Z e níveis plasmáticos mais baixos de HDL-c quando comparados ao grupo sem a mutação. Entretanto, os valores de TG, TC, LDL-c, glicemia e insulina não diferiram entre os grupos. Nenhum efeito significativo foi encontrado nas meninas obesas. Outro estudo recente encontrou maiores valores de LDL-c e TG no grupo portador do alelo 64Arg quando comparado ao grupo sem o alelo Trp64 (OGURI, TACHI, MATSUOKA, 2013).

Contudo, o trabalho de Erhardt *et al.* (2005) encontrou resultados diferentes ao avaliar o perfil lipídico, metabólico e variáveis pressóricas em crianças, os valores TG, CT, HDL-c e glicemia não diferiram entre o grupo com e sem a mutação Trp64Arg no gene *ADBR3*. Porém, peso corporal, massa gorda, PAS e insulina em jejum foram mais elevados no grupo com o alelo 64Arg. Resultados semelhantes foram encontrados nesta pesquisa nas variáveis de perfil lipídico e valores de glicemia e PAD, apenas a PAS não se comportou da mesma maneira, no presente estudo os valores de PAS não diferiram entre os grupos. Ao avaliar meninos e meninas de maneira separada, nas meninas, o grupo portador da mutação no gene *ADBR3* apresentou valores menores de glicemia quando comparado ao grupo com e sem a mutação, sugerindo um fator de proteção para a glicemia, apesar de ambos os grupos apresentarem valores adequados.

Não foram encontrados estudos que compararam a aptidão cardiorrespiratória em portadores ou não da mutação Trp64Arg (*ADRB3*). Os grupos com e sem a mutação não diferiram quanto à condição cardiorrespiratória provavelmente devido à condição sedentária que ambos os grupos se apresentavam.

### 3.5.2 Mutação Arg16Gly no gene *ADBR2*



O ADBR2 desempenha papel importante na regulação do consumo de energia ao estimular o metabolismo dos lipídios no tecido adiposo. Polimorfismos no gene ADRB2 têm sido associados à obesidade, mas pouco se conhece sobre os efeitos do gene ADRB2 sobre a obesidade infantil (ELLSWORTH *et al.*, 2002).

Em adultos, inúmeros trabalhos têm relacionado à obesidade e o polimorfismo Arg16Gly (*ADBR2*). O estudo brasileiro de Mattevi *et al.* (2006) relatou valores elevado de IMC e CA em homens com a mutação Arg16Gly (*ADBR2*), nas mulheres não foram encontradas diferenças. Outro estudo em adultos sauditas encontrou valores mais elevados de CA nos portadores do alelo 16Gly no gene *ADBR2*. Um trabalho que acompanhou 1151 crianças até a idade adulta revelou que os meninos portadores de alelo 16Gly apresentavam na infância IMC semelhante ao grupo sem a mutação (Arg16Arg), contudo na idade de aproximadamente 21 anos os portadores do alelo 16Gly apresentavam tendência a IMC maior. Essa diferença ficava mais evidente na idade de 35 anos. Nas meninas foram encontradas diferenças no IMC, mas não foram relacionadas com o aumento de idade.

Diferente destes achados, o estudo de Chou *et al.* (2012) avaliou crianças taiwanesas e revelou que as meninas com genótipo Gly16Gly tiveram uma menor probabilidade de obesidade do que os genótipos Arg16Gly ou Arg16Arg. As meninas com genótipo Gly16Gly tiveram menor IMC do que aquelas com genótipo Arg16Arg. Nos meninos não foram encontradas diferenças. No presente estudo não foram encontradas diferenças nos valores de IMC-score Z e CA entre os grupos com e sem o alelo 16Gly.

A mutação Arg16Gly do gene ADBR2 tem sido relacionada com alterações na pressão arterial, porém os resultados são muito controversos. Um estudo não relacionou o aumento da pressão com o polimorfismo Arg16Gly em adultos (KATO *et al.*, 2001), entretanto outros trabalhos em adultos relacionaram a presença do alelo 16Gly com o aumento na pressão arterial (MASUO *et al.*, 2005; PEREIRA *et al.*, 2003). Em crianças o alelo 16Gly foi associado a menor probabilidade de hipertensão em meninas. Neste trabalho não foram encontradas diferenças nos valores de PAS e PAD entre os grupos com e sem a mutação Arg16Gly no gene *ADBR2*.

Variáveis relacionadas ao perfil lipídico e metabólico foram avaliadas e relacionadas com o polimorfismo Arg16Gly (*ADBR2*). No estudo de Daghestani *et al.* (2012) o grupo portador do alelo Gly16 apresentou maiores valores de CT, TG, LDL-

c, HOMA-IR e leptina. Não houve diferença apenas no HDL-c e insulina. Neste trabalho os valores de perfil lipídico não diferiram entre os grupos com e sem a mutação Arg16Gly (*ADBR2*), assim como a glicemia em jejum.

### 3.5.3 Efeito da mutação Gln27Glu no gene *ADBR2*

O gene *ADBR2* apresenta dois importantes polimorfismos candidatos à obesidade entre eles a mutação Gln27Glu. Entretanto, existem resultados controversos relacionados a esse polimorfismo. Um trabalho que avaliou o tempo gasto assistindo televisão, o aumento da obesidade e a mutação Gln27Glu (*ADBR2*) revelou que as meninas portadoras do alelo 27Glu apresentavam maior IMC, mesmo com pouco tempo assistindo televisão, nos meninos não foi encontrada esta relação (OCHOA *et al.*, 2006). Outro estudo em crianças taiwanesas não encontrou diferença nos valores de IMC e CA quando comparado o grupo com e sem o alelo 27Glu (CHOU *et al.*, 2012). No presente estudo não foram encontradas diferenças nos valores de IMC-escore Z e CA entre os grupos com e sem a mutação 27Glu.

Atualmente, estudos têm demonstrado a associação da hipertensão arterial e suas complicações com diversos polimorfismos genéticos (ROLA, FERREIRA, 2008) entre eles os polimorfismos no *ADBR2*. Os resultados de estudos que avaliaram valores PAS e PAD e o polimorfismo Gln27Glu (*ADBR2*) são controversos. Villares *et al.* (2001) encontraram valores de PAS e PAD mais elevados no grupo portador da mutação 27Glu comparado ao grupo sem a mutação. Entretanto, outros estudos não encontraram essa diferença (ROSMOND *et al.*, 2000; MASUO *et al.*; 2010). Neste estudo a PAS e PAD foram semelhantes entre os grupos.

Receptores adrenérgicos são conhecidos por sua importância no controle da lipólise e alguns trabalhos têm relacionado variáveis do perfil lipídico com mutações no gene *ADBR2*. O estudo de Ishiyama-Shigemoto *et al.* (1999) encontrou valores TG e CT mais elevados no grupo portador na mutação 27Glu quando comparados ao grupo sem a mutação. Macho-Azcarate *et al.*, (2002) encontraram valores de TG elevados em mulheres portadoras da mutação 27Glu quando comparadas ao grupo de mulheres com o genótipo homozigoto para o alelo 27Gln. Os autores realizaram testes máximos nas mulheres com e sem a mutação e sugeriram que a lipólise e oxidação de gordura promovido pelo exercício submáximo poderiam ser reduzidas no grupo com a mutação 27Glu no gene *ADRB2*. No presente estudo apenas o nível

de TG foi maior nos portadores do alelo 27Glu em comparação ao grupo homozigoto para o alelo Gln27.

Corroborando com o estudo brasileiro de Silva (2007), em que as crianças obesas com e sem o polimorfismo no gene *ADBR2* (Gln27Glu) não apresentaram diferença nos valores de CT, HDL-c, LDL-c, TG, insulina e HOMA-IR. Apenas os resultados de TG foram diferentes dos achados deste estudo.

No presente estudo, os valores de  $VO_{2max}$  também não diferenciaram entre os grupos. Um estudo em mulheres obesas encontrou valores semelhantes entre os grupos com e sem o alelo 27Gln, contudo durante o teste foram encontradas diferenças na oxidação da gordura (MACHO et. al., 2002).

### 3.6 Conclusão

Neste estudo, as frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo Trp64Arg do gene *ADBR3*, Arg16Gly e Gln27Glu do gene *ADBR2* das crianças e adolescentes são semelhantes com os achados de outro estudo realizado em adultos do Sul do Brasil (MATTEVI et al., 2006).

Não foram encontradas relações entre as mutações nos genes *ADBR2* (Arg16Gly, Gln27Glu) e *ADBR3* (Trp64Arg) com as variáveis da composição corporal (peso, IMC-escore Z e circunferência abdominal), pois os grupos com e sem mutação apresentaram valores semelhantes.

Nas variáveis metabólicas e de perfil lipídico, os grupos com e sem a mutação Arg16Gly no gene *ADBR2* apresentaram valores semelhantes. Na mutação Gln27Glu do gene *ADBR2* houve diferenças nos valores de TG, o grupo com a mutação demonstrou valores mais elevados do que o grupo sem o polimorfismo.

No gene *ADBR3* o polimorfismo estudado demonstrou ser fator de proteção para o aumento da glicemia nas meninas, apesar de ambos os grupos apresentarem valores adequados.

#### **4. ESTUDO 2: PROGRAMA MULTIDISCIPLINAR EM ADOLESCENTES COM EXCESSO DE PESO COM DIFERENTES GENÓTIPOS PARA OS RECEPTORES BETA 2 E 3 ADRENÉRGICO**

##### **4.1 INTRODUÇÃO:**

Os mecanismos de controle do peso corporal têm despertado interesse em inúmeros estudos, motivado a entender as principais causas que têm levado a epidemia global de obesidade. O controle de peso corporal está relacionado basicamente a três componentes no sistema neuroendócrino: o sistema aferente, que envolve os sinais de saciedade e de apetite; a unidade de processamento do sistema nervoso central; e o sistema eferente, um complexo de apetite, saciedade, efetores autonômicos e termogênicos, que leva ao estoque energético (GUEDES *et al.*, 2009).

Atualmente, sabe-se que fatores ambientais, aumento do consumo calórico e a inatividade física, e fatores genéticos estão envolvidos no processo de controle do peso corporal. Bouchard (2009) sugere que a obesidade infantil depende da interação genótipo-nutrição e genótipo-atividade física. Um trabalho com gêmeos mostrou que a obesidade abdominal e o índice de massa corporal (IMC) são atribuídos a 40% de influência genética (WARDLE, *et al.*, 2008).

O tratamento da obesidade é complexo e multidisciplinar, envolvendo principalmente mudança no estilo de vida com a adesão a educação alimentar e a prática de atividade física regular. A prática regular de exercício físico é uma das ferramentas utilizadas no tratamento da obesidade. Trabalhos têm demonstrado o exercício induz mudanças no peso e composição corporal (LEITE *et al.*, 2009). Entretanto, a sensibilidade para a resposta a tratamentos experimentais com balanço energético negativo é fortemente influenciada pela herança genética (BOUCHARD, 2009).

Os receptores adrenérgicos, importantes na regulação do peso corporal devido a seu envolvimento no controle no gasto energético e da lipólise, têm sido estudados para a melhor compreensão dos mecanismos envolvidos no controle de peso corporal (GARENC *et al.* 2001; WALSTON *et al.*, 2003; PHARES *et al.*, 2004).

Em adultos, o aumento de peso, índice de massa corporal e circunferência abdominal foram relacionados com os polimorfismos 16Gly no receptor ADBR2 (ELLSWORTH *et al.* 2002; MATTEVI *et al.*, 2006), além disso foram encontradas associações significativas do polimorfismo Glu27 com risco de obesidade em meninas (OCHOA *et al.*, 2006).

O receptor beta 3-adrenérgico está localizado principalmente no tecido adiposo e está envolvido na regulação na lipólise e termogênese. Clement *et al.* (1995) ao examinarem pacientes obesos mórbidos com a mutação Trp64Arg no receptor ADBR3 encontrou que os pacientes com a mutação apresentaram a capacidade para ganho de peso maior do que o grupo sem a mutação, sugerindo assim que a mutação no gene ADBR3 está relacionada à obesidade em adultos. Alguns estudos demonstraram redução do peso após dieta hipocalórica e exercício físico é maior no grupo sem a mutação do que no grupo com a mutação no receptor ADBR3 (PHARES *et al.*, 2004; LUIS *et al.*, 2007), contudo outros estudos não encontraram diferenças (BEA *et al.*, 2010; GARENC *et al.*, 2001). No gene ADBR2 após 12 semanas de dieta hipocalórica não foram encontrados qualquer efeito de interação significativos com o polimorfismo Arg16Gly. Porém, para a mutação Gln27Glu foram observadas alterações induzidas por dieta sobre o peso corporal e da composição corporal (RUIZ *et al.*, 2011).

Na população infanto-juvenil foi encontrado apenas um estudo em crianças chinesas que avaliou se a mutação Trp64Arg no receptor ADBR3 estava associada à obesidade. Para isso 47 crianças obesas foram submetidas a três meses de intervenção dietética e os resultados demonstraram que após três meses o aumento do peso e IMC foi inferior nas crianças obesas sem a mutação (XINLI *et al.*, 2001).

Não foram encontrados trabalhos que estudaram o papel dos polimorfismos (Gln27Glu) e (Arg16Gly) no gene ADRB2 sobre o peso corporal e as alterações da composição corporal e metabólicas após tratamento com exercício físico e orientação nutricional, demonstrando a lacuna e a necessidade de estudos que avaliem a influência da mutação nos receptores ADBR2 e ADBR3 nas respostas metabólicas de crianças e adolescentes obesos submetidos a exercício físico e orientação nutricional.

## 4.2 OBJETIVO

Esse estudo pretende investigar o papel da mutação no receptor  $\beta 3$  localizado no códon 64 (Trp64Arg; rs 4994) e do receptor  $\beta 2$  na posição 16 (Arg16Gly; rs1042713) e 27 (Gln27Glu; rs1042714) na obesidade precoce e sua resposta quanto as variáveis antropométricas, cardiorrespiratória e metabólica em crianças e adolescentes com excesso de peso submetida a tratamento multidisciplinar com 12 semanas de exercício físico e orientação nutricional.

### 4.2.1 Objetivos específicos

- Comparar os dados iniciais das variáveis antropométricas, metabólicas, cardiorrespiratórias e de perfil lipídico entre os obesos com e sem as mutações Trp64Arg no gene *ADBR3*; Arg16Gly e Gln27Glu no gene *ADBR2*;
- Determinar o efeito de 12 semanas de exercícios físicos e orientação nutricional nas variáveis de composição corporal, antropométricas, pressóricas, metabólicas e do gasto metabólico basal em relação à presença ou não da mutação Trp64Arg do gene *ADBR3*;
- Comparar o efeito de 12 semanas de exercícios físicos e orientação nutricional nas variáveis da composição corporal, antropométricas, pressóricas, metabólicas e do gasto metabólico basal em relação à presença ou não as mutações Arg16Gly e Gln27Glu do gene *ADBR2*.

### 4.3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 4.3.1 Desenho do estudo

O estudo foi desenvolvido com crianças e adolescentes que apresentam excesso de peso. O desenho do estudo encontra-se a seguir:

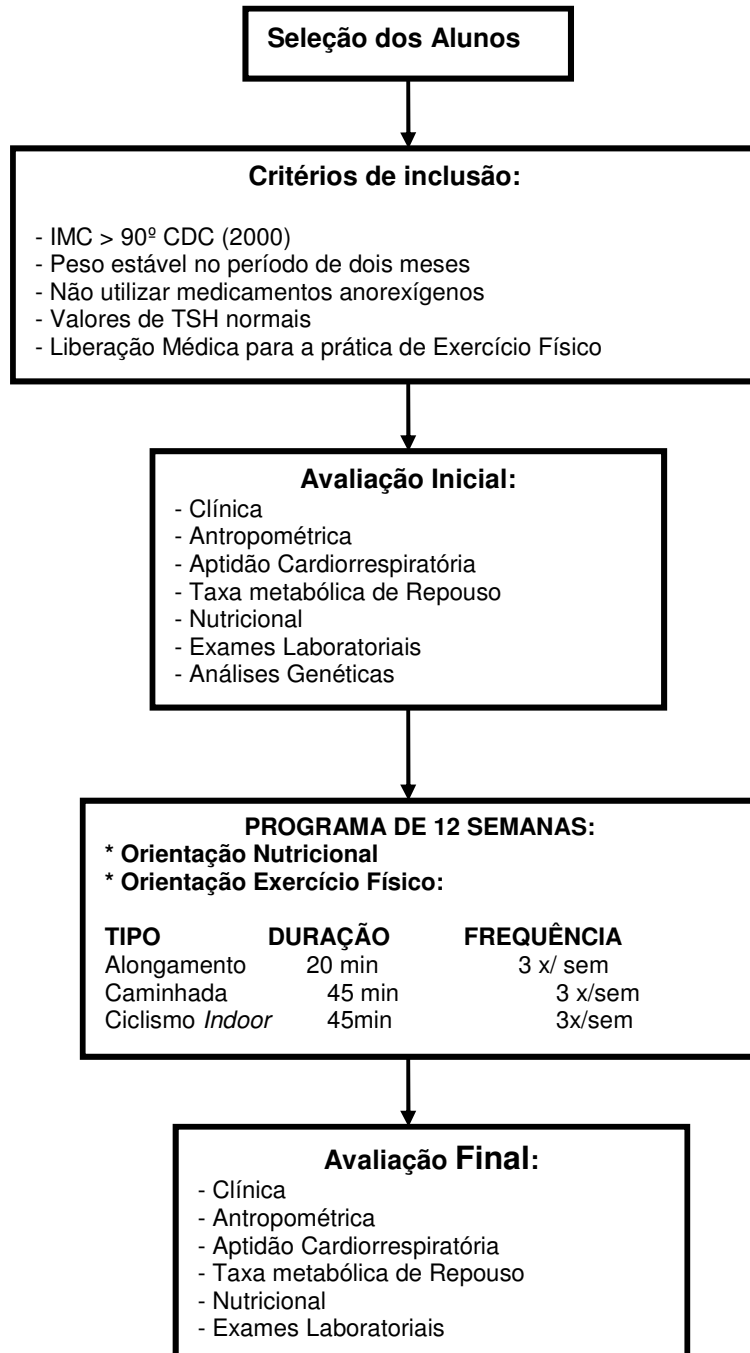


FIGURA 4.1- DESENHO DO ESTUDO 2

#### 4.3.2 Participantes:

Oitenta e três adolescentes com excesso de peso com idades entre 10-16 anos, participaram da intervenção. Os critérios de inclusão ao programa foram presença de diagnóstico de sobrepeso ou obesidade, IMC acima do nonagésimo percentil, para idade e sexo, pela curva padronizada pelo CDC, faixa etária de 10 a 16 anos, peso estável em período maior ou igual há dois meses; não apresentar valores de TSH alterados, não utilizar medicamentos anorexígenos que pudessem interferir no controle de peso e apresentar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado pelos pais ou responsáveis concordando com a participação do aluno, conforme documento aprovado no Comitê de Ética do Setor de Saúde da UFPR, sob o número sob o número CEP – 05/09, atendendo a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde sobre pesquisa envolvendo seres humanos.

#### 4.3.3 Avaliação antropométrica

Os procedimentos metodológicos utilizados na avaliação e classificação dos dados antropométricos como estatura, peso, circunferência abdominal e cálculos do IMC e IMC-escore Z estão descritos no item 3.3.2 do Estudo 1.

#### 4.3.4 Avaliação da Composição Corporal

A composição corporal foi mensurada por impedância bioelétrica tetrapolar, com o aparelho *Biodynamics*®. Para a avaliação os indivíduos deveriam estar em jejum de 10 a 12 horas. Os eletrodos foram posicionados na superfície dorsal das mãos e dos pés, respectivamente próximo às articulações metacarpo-falangeano e metatarso-falangeanas e medialmente entre as proeminências distais do rádio e da ulna e entre os maléolos tibiais e fibular. Foram obtidos os valores de resistência e calculadas a massa livre de gordura e massa gorda por meio de equações validadas



por Houtkooper *et al.* (1992), disponíveis no programa *Comprehensive Body Composition Software*.

#### 4.3.5 Avaliação Puberal:

O procedimento metodológico utilizados na avaliação do estágio maturacional está descrito no item 3.3.3 do Estudo 1.

#### 4.3.6 Avaliação da aptidão cardiorrespiratória

O procedimento metodológico utilizado na avaliação da aptidão cardiorrespiratória está descrito no item 3.3.6. A frequência cardíaca de repouso ( $FC_{rep}$ ) foi avaliada por um frequencímetro da marca polar. O indivíduo deveria estar em repouso sentado por 10 minutos. PAS e PAD estão descritos no item 3.3.3 do Estudo 1.

#### 4.3.7 Determinação do Gasto Metabólico em Repouso

A mensuração do gasto metabólico em repouso (GMR) foi realizada por calorimetria indireta no aparelho *Deltatrac II*<sup>®</sup>, no modo canópia (respiração espontânea). O avaliado deveria estar em jejum de 10 - 12 horas antes do procedimento. A mensuração do GMR foi pela manhã, com o avaliado deveria ficar 35 em decúbito dorsal, determinados o  $VO_2$  e o  $VCO_2$  e calculado o R. Os primeiros cinco minutos foram desprezados e o valor do GMR foi obtido durante 30 minutos e extrapolado para 24 horas, conforme protocolo utilizado no HC.

#### 4.3.8 Exames laboratoriais:

Foi necessária coleta sanguínea para determinar as concentrações de glicose, insulina, colesterol total (CT), HDL-c, LDL-c e triacilglicerol (TG). Os procedimentos metodológicos utilizados na coleta sanguínea e avaliação estão descritos no item 3.3.4 do Estudo 1.

Os níveis de glicemia foram determinados com o método enzimático (Glicose Oxidase – Labtest). Após 120 min da ingestão de solução contendo 1,75 g glicose/kg (até no máximo 75 g), foram coletadas amostras sanguíneas para dosagens de glicemia e de insulinemia.

Para o cálculo da resistência à insulina foi utilizado o *Homeostasis Model Assessment* (HOMA) calculado por meio do programa *HOMA Calculator v2. 2*. Para a avaliação da sensibilidade da insulina, foi utilizado o índice *Quantitative Insulin Sensitivity Check Index* (QUICKI), descrito por Katz *et al.* (2000).

Os pontos de corte para hiperinsulinemia ( $> 12,68 \mu\text{U/mL}$ ), resistência insulínica (RI) ( $> 2,94$ ) e sensibilidade insulínica (SI) ( $< 0,305$ ) foram utilizados conforme Leite (2005).

#### 4.3.9 Análises genéticas:

Os procedimentos metodológicos utilizados na extração de DNA e avaliação dos polimorfismos nos genes *ADBR2* e *ADBR3* estão descritos no capítulo 3 item 3.3.5 do Estudo 1.

#### 4.3.10 Avaliação nutricional

A orientação nutricional foi desenvolvida por duas nutricionistas, alunas do Curso de Pós-Graduação *Lato-Sensu* de Nutrição Clínica pela UFPR. Para a elaboração da dieta hipocalórica foi calculado o valor calórico total (VCT) pelas fórmulas validadas pela *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO, 1985). Para a prescrição da dieta, foram retiradas 500 quilocalorias (kcal) por

dia do VCT, visando à redução de peso, aproximadamente, em 0,5 kg por semana. Utilizou-se o nível de atividade leve, de 1,56 para os meninos e de 1,55 para as meninas. Calculou-se o VCT pela seguinte fórmula:

$$\text{VCT} = [(7,4 \times \text{peso}) + (482 \times \text{estatura}) + 217] \times \text{nível de atividade física}$$

Os indivíduos também participaram de dois encontros durante as 12 semanas. No primeiro encontro (em grupo), discutiu-se a aplicação prática da pirâmide alimentar quanto à distribuição e porcionamento dos alimentos. No segundo encontro (individual), discutiu-se sobre as mudanças ocorridas na alimentação diária de cada participante durante o período do projeto, bem como a adaptação individual à dieta prescrita.

#### 4.3.11 Programa de exercício físico

O programa de exercício físico consistiu em atividades aeróbias (45 min de caminhada, 45 min de ciclismo *indoor* e 20 min de alongamento). A faixa de treinamento individualizada para a caminhada e ciclismo *indoor* foi calculada a partir da  $FC_{\text{máx}}$  e o  $VO_{2\text{máx}}$  obtido no teste ergométrico. O ciclismo *indoor* e a caminhada foram iniciados na intensidade entre 35 a 55% da FC de reserva (FCR), aumentando-se para 45 a 65%, na 5ª a 8ª semana, e atingindo-se entre 55 e 75% da FCR na 9ª a 12ª semana.

#### 4.3.12 Análise estatística

Os dados foram apresentados como médias e desvios padrão. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi aplicado para avaliar a normalidade dos dados. Os dados que não apresentaram distribuição normal foram transformados em logaritmos.

A fim de comparar os dados iniciais entre o grupo com e sem a mutação foi utilizado o teste t. As variáveis que apresentaram diferença foram aplicadas uma

análise de covariância (ANCOVA), utilizando os dados iniciais como covariantes para comparar os valores pós-teste, desconsiderando as diferenças iniciais. .

As variáveis iniciais que não diferiram entre os grupos, a ANOVA para medidas repetidas foram utilizadas para examinar as diferenças e efeitos de tratamento (grupo x tempo).

Os percentuais de alterações nos valores pré e pós-intervenção foram obtidos utilizando a seguinte fórmula:  $\Delta (\%) = ((\text{dados iniciais} - \text{dados pós-intervenção}) / \text{dados iniciais}) \times 100$ .

Os testes estatísticos tiveram nível de significância de  $p < 0,05$  e foram realizados utilizando o programa estatístico *Statistica v.7.0* (Statsoft).

#### 4.4 RESULTADOS

Inicialmente, 107 adolescentes começaram a intervenção, sendo que oitenta e três (39 meninos e 44 meninas) completaram as 12 semanas com sessões de exercício físico e orientação nutricional. Vinte e quatro alunos não concluíram o estudo (10 meninas e 14 meninos), os principais motivos de desistência constam na Figura 4.2.

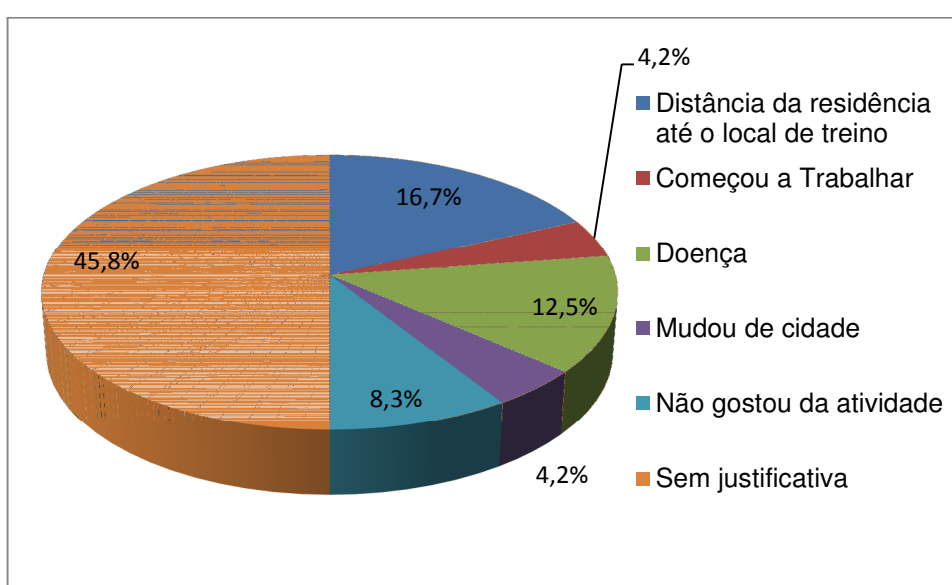


FIGURA 4.2: MOTIVOS DE DESISTÊNCIA DO PROGRAMA DE EXERCÍCIO FÍSICO E ORIENTAÇÃO NUTRICIONAL

Ao comparar os dados iniciais entre meninos e meninas não foram encontradas diferenças em nenhuma das variáveis antropométricas e metabólicas estudadas, desta forma os dados foram tratados como um único grupo, independente do sexo. A média de idade entre meninos ( $12,7 \pm 1,79$  anos) e meninas ( $13,03 \pm 1,87$ anos) também não diferiu.

Comparando os valores iniciais e finais dos 83 adolescentes com excesso de peso, após 12 semanas de intervenção houve reduções de peso, IMC-escore Z, CA, %G, TG, GLI120, INS e INS120; e aumento nos valores de estatura, MM, HDL-c e  $VO_{2max}$ . Não foram encontradas modificações no CT, LDL-c e na GLI (TABELA 4.1).

TABELA 4.1 – VALORES DE DADOS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS DOS ÍNDIVÍDUOS COM EXCESSO DE PESO, ANTES E APÓS A INTERVENÇÃO

Variáveis	Inicial		Final		p
	M	DP.	M	DP.	
PESO (kg)	76,13	$\pm 16,45$	75,00	$\pm 16,55$	$< 0,001$
ESTATURA (m)	1,59	$\pm 0,09$	1,60	$\pm 0,09$	$< 0,001$
IMC-ESCORE Z	2,76	$\pm 0,70$	2,57	$\pm 0,77$	$< 0,001$
CA (cm)	97,87	$\pm 11,32$	95,01	$\pm 11,67$	$< 0,001$
FCR (bpm)	83,56	$\pm 11,47$	77,11	$\pm 10,59$	$< 0,001$
%G	38,69	$\pm 5,35$	36,76	$\pm 5,54$	$< 0,001$
MM (kg)	45,64	$\pm 8,71$	46,32	$\pm 8,39$	$= 0,01$
CT (mg/dl)	159,69	$\pm 33,17$	154,82	$\pm 29,55$	ns
HDL-c (mg/dl)	43,24	$\pm 7,23$	48,68	$\pm 8,81$	$< 0,001$
LDL-c (mg/dl)	90,89	$\pm 26,93$	88,72	$\pm 24,97$	ns
TG (mg/dl)	122,27	$\pm 68,88$	89,50	$\pm 49,95$	$< 0,001$
GLICEMIA (mg/dl)	90,13	$\pm 8,62$	90,15	$\pm 8,17$	ns
GLI120 (mg/dl)	100,20	$\pm 18,81$	90,51	$\pm 15,93$	$< 0,001$
INS (mg/dl)	17,22	$\pm 10,50$	14,14	$\pm 9,14$	$< 0,001$
INS120 (mg/dl)	64,76	$\pm 49,29$	42,53	$\pm 28,49$	$< 0,001$
HOMAIR	2,16	$\pm 1,29$	1,74	$\pm 1,07$	$< 0,001$
QUICKI	0,31	$\pm 0,03$	0,33	$\pm 0,03$	$< 0,001$
$VO_2$ (ml/Kg/min)	31,71	$\pm 5,45$	36,01	$\pm 6,69$	$< 0,001$
TMR (kcal/dia)	1684,01	$\pm 304,91$	1621,36	$\pm 300,95$	ns

CA: circunferência abdominal, FCR: frequência cardíaca de repouso. PAS: Pressão Arterial Sistólica, PAD: Pressão Arterial Diastólica, %G: percentual de gordura, MM: massa magra, CT: colesterol total, TG: Triglicerídeos, GLI: glicemia basal, GLI120: glicemia após 120min, INS: insulina basal, INS120: insulina 120min,  $VO_{2max}$ : volume máximo de oxigênio, TMR: taxa metabólica de repouso.

#### 4.4.1 Efeito do exercício físico e orientação nutricional e polimorfismo Trp64Arg no gene *ADBR3*

Do total de participantes, 65 (30 meninos e 35 meninas; 79,1%) apresentavam o genótipo Trp64Trp, 15 o genótipo Trp64Arg (sete meninos e oito meninas; 17,4%) e três o genótipo Arg64Arg (um menino e duas meninas; 3,5%). Para comparar as variáveis entre os grupos foi necessário unir os portadores do alelo 64Arg em um grupo. Os valores iniciais de glicemia 120min e HOMA-IR foram maiores no grupo portador da mutação no gene *ADBR3* (Trp64Arg + Arg64Arg) quando comparados ao grupo sem a mutação (Trp64Trp). As variáveis de idade, peso, estatura, IMC-escore Z, CA, FCR, %G, MM, CT, HDL, LDL, TG, glicemia basal, insulina basal, insulina 120min, QUICKI, VO<sub>2max</sub> e TMR foram semelhantes entre os grupos (TABELA 4.2).

TABELA 4.2 VALORES DE DADOS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS DOS ÍNDIVÍDUOS COM E SEM A MUTAÇÃO TRP64ARG DO GENE *ADBR3*, INICIAL

	Trp64Trp (n=65)		Trp64Arg+ Arg64Arg (n=18)		p
	M	DP.	M	DP.	
PESO (kg)	75,22	±16,33	79,41	±16,95	ns
ESTATURA (m)	1,59	±0,10	1,61	±0,08	ns
IMC-SCOREZ	2,72	±0,70	2,92	±0,71	ns
CA (cm)	97,13	±11,27	100,75	±11,37	ns
FCR (bpm)	82,86	±11,22	86,11	±12,31	ns
PAS (mmHg)	108,10	±15,29	109,22	±16,60	ns
PAD (mmHg)	69,42	±11,28	71,11	±10,72	ns
%G	39,06	±5,36	37,24	±5,21	ns
MM (Kg)	45,54	±9,20	46,08	±6,69	ns
CT (mg/dl)	159,49	±33,64	160,39	±32,35	ns
HDL-c (mg/dl)	43,18	±7,49	43,48	±6,38	ns
LDL-c (mg/dl)	93,24	±28,10	82,41	±20,69	ns
TG (mg/dl)	116,20	±60,13	143,83	±92,61	ns
GLI (mg/dl)	90,71	±8,45	88,04	±9,18	ns
GLI120 (mg/dl)	99,78	±17,09	101,72	±24,58	<b>0,03</b>
INS (mg/dl)	16,67	±9,73	19,29	±13,15	ns
INS120 (mg/dl)	63,16	±49,71	70,55	±49,00	ns
HOMA-IR	2,07	±1,09	2,54	±1,91	<b>0,001</b>
QUICKI	0,32	±0,03	0,31	±0,03	ns
VO2 (ml/Kg/min)	31,77	±5,52	31,47	±5,37	ns
TMR (kcal/dia)	1643,33	±277,07	1737,86	±294,40	ns

CA: circunferência abdominal, FCR: frequência cardíaca de repouso. PAS: Pressão Arterial Sistólica, PAD: Pressão Arterial Diastólica, %G: percentual de gordura, MM: massa magra, CT: colesterol total, TG: Triglicerídeos, GLI: glicemia basal, GLI120: glicemia após 120min, INS: insulina basal, INS120: insulina 120min, VO<sub>2max</sub>: volume máximo de oxigênio, TMR: taxa metabólica de repouso.

A Tabela 4.3 mostra as diferenças nas variáveis antropométricas, metabólicas e cardiorrespiratórias antes e após 12 semanas de intervenção no grupo com e sem o polimorfismo no gene *ADBR3*. Após 12 semanas os valores de IMC-escore Z, FCR, %G, TG, INS120 e HOMA-IR reduziram tanto no grupo com o polimorfismo (Trp64Arg + Arg64Arg) quanto no grupo sem o polimorfismo (Trp64Trp), apresentando resultados semelhantes entre os grupos. Houve aumento na estatura, HDL-c e  $VO_{2max}$  em ambos os grupos. Não foram encontradas diferença na PAS, PAD, CT, LDL-c, GLI e TMR, nos dois grupos com e sem o polimorfismo no gene *ADBR3*. Os valores de peso, CA, GLI120, INS reduziram apenas no grupo sem a mutação no gene *ADBR3* (Trp64Trp); e os valores de MM e QUICKI reduziram apenas no grupo sem a mutação no gene *ADBR3* (Trp64Trp); entretanto ao avaliar o efeito do exercício e a presença ou ausência da mutação juntos, não houve diferenças. O HOMA-IR reduziu em ambos os grupos, porém em proporções menores no grupo sem a mutação, assim quando analisados conjuntamente os efeitos do exercício e presença da mutação encontrou-se diferença significativa ( $F=6,25$ ;  $p=0,01$ ).

TABELA 4.3 – VALORES DE DADOS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS DOS ÍNDIVIDUOS COM E SEM A MUTAÇÃO Trp64Arg DO GENE *ADBR3*, ANTES E APÓS A INTERVENÇÃO

	Trp64Trp (n=65)					Trp64Arg+ Arg64Arg (n=18)					Grupo x Tempo	
	Inicial		Final		p	Inicial		Final		P	F	P
	M	DP.	M	DP.		M	DP.	M	DP.			
PESO (kg)	75,22	±16,33	74,21	±16,11	<b>0,0003</b>	79,41	±16,95	78,84	±17,98	0,49	0,88	0,35
ESTATURA (m)	1,59	±0,10	1,60	±0,10	<b>0,0000</b>	1,61	±0,08	1,62	±0,08	<b>0,0000</b>	0,01	0,93
SCOREZ	2,72	±0,70	2,52	±0,74	<b>0,0000</b>	2,92	±0,71	2,78	±0,87	<b>0,05</b>	0,88	0,35
CA (cm)	97,13	±11,27	94,31	±11,67	<b>0,0000</b>	100,75	±11,37	97,69	±11,64	0,08	0,57	0,45
FCR (bpm)	82,86	±11,22	77,08	±10,91	<b>0,0000</b>	86,11	±12,31	77,22	±9,67	<b>0,0001</b>	0,01	0,93
PAS (mmHg)	108,10	±15,29	104,95	±14,25	0,06	109,22	±16,60	110,50	±11,89	0,75	1,34	0,25
PAD (mmHg)	69,42	±11,28	68,90	±11,06	0,62	71,11	±10,72	71,61	±9,50	0,88	0,13	0,71
%G	39,06	±5,36	37,08	±5,45	<b>0,0000</b>	37,24	±5,21	35,56	±5,92	<b>0,0001</b>	1,04	0,93
MM (Kg)	45,54	±9,20	45,77	±8,62	<b>0,029</b>	46,08	±6,69	48,47	±7,29	0,06	0,06	0,80
CT (mg/dl)	159,49	±33,64	156,18	±30,80	0,63	160,39	±32,35	149,69	±24,50	0,63	0,01	0,92
HDL (mg/dl)	43,18	±7,49	48,72	±9,12	<b>0,02</b>	43,48	±6,38	48,53	±7,74	0,02	0,06	0,80
LDL (mg/dl)	93,24	±28,10	90,76	±25,96	0,45	82,41	±20,69	81,08	±19,73	0,93	0,20	0,66
TG (mg/dl)	116,20	±60,13	84,92	±38,09	<b>0,01</b>	143,83	±92,61	106,69	±79,83	<b>0,008</b>	2,11	0,15
GLICEMIA (mg/dl)	90,71	±8,45	90,50	±7,88	0,64	88,04	±9,18	88,88	±9,38	0,15	1,63	0,39
GLI120 (mg/dl)	99,78	±17,09	90,38	±15,32	<b>0,000</b>	101,72	±24,58	91,08	±18,92	0,18	1,63	0,31
INS (mg/dl)	16,67	±9,73	13,43	±8,43	<b>0,001</b>	19,29	±13,15	17,01	±11,47	0,31	0,10	0,74
INS120 (mg/dl)	63,16	±49,71	43,66	±26,93	<b>0,0003</b>	70,55	±49,00	37,94	±35,03	<b>0,005</b>	0,23	0,63
HOMAIR	2,07	±1,09	1,79	±1,04	<b>0,03</b>	2,54	±1,91	1,54	±1,29	<b>0,03</b>	<b>6,25</b>	<b>0,01</b>
QUICKI	0,32	±0,03	0,33	±0,03	<b>0,000</b>	0,31	±0,03	0,32	±0,03	0,14	0,22	0,63
VO2 (ml/Kg/min)	31,77	±5,52	36,08	±6,76	<b>0,000</b>	31,47	±5,37	35,75	±6,66	<b>0,03</b>	0,20	0,66
TMR (kcal/dia)	1643,33	±277,07	1583,36	±265,57	0,07	1737,86	±294,40	1685,73	±253,40	0,58	0,18	0,63

CA: circunferência abdominal, FCR: frequência cardíaca de repouso. PAS: Pressão Arterial Sistólica, PAD: Pressão Arterial Diastólica, %G: percentual de gordura, MM: massa magra, CT: colesterol total, TG: Triglicerídeos, GLI: glicemia basal, GLI120: glicemia após 120min, INS: insulina basal, INS120: insulina 120min, VO<sub>2max</sub>: volume máximo de oxigênio, TMR: taxa metabólica de repouso.



#### 4.4.2 Efeito do exercício físico e orientação nutricional e polimorfismo Arg16Gly no gene *ADBR2*

Do total da amostra apenas 59 participantes tiveram o genótipo do gene *ADBR2* (Arg16Gly) determinados, deste total, 11 (seis meninos e cinco meninas; 18,6%) apresentavam o genótipo Arg16Arg e 24 apresentaram o genótipo Arg16Gly (11 meninos e 13 meninas; 40,7%) e 24 o genótipo Gly16Gly (14 meninos e 13 meninas; 40,7%). Para comparar as variáveis entre os grupos foi necessário unir os portadores do alelo 16Gly em um só grupo. Ao comparar os valores iniciais, a glicemia 120min foi maior nos portadores da mutação no gene *ADBR2* (Arg16Gly+Gly16Gly). As variáveis de idade, peso, estatura, IMC-escore Z, CA, FCR, %G, MM, CT, HDL, LDL, TG, glicemia basal, insulina basal, insulina 120min, HOMA-IR, QUICKI,  $VO_{2max}$  e TMR foram semelhantes entre os grupos (TABELA 4.4).

TABELA 4.4 VALORES DE DADOS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS INICIAIS DOS INDIVÍDUOS COM E SEM A MUTAÇÃO DO GENE *ADBR2* (ARG16GLY)

	Arg16Arg (n =11)		Arg16Gly + Gly16Gly (n = 42)		P
	M	DP.	M	DP.	
PESO (kg)	78,32	±15,59	78,63	±17,83	ns
ESTATURA (m)	1,62	±0,08	1,59	±0,09	ns
IMC-SCORE Z	2,65	±0,47	2,87	±0,83	ns
CA (cm)	97,03	±9,90	99,96	±12,50	ns
FCR (bpm)	83,10	±11,22	84,46	±12,63	ns
PAS (mmHg)	113,10	±12,31	107,80	±16,07	ns
PAD (mmHg)	73,20	±9,94	69,35	±11,84	ns
%G	39,02	±5,73	38,85	±4,77	ns
MM (kg)	48,38	±8,19	44,86	±9,05	ns
CT (mg/dl)	163,54	±39,68	159,47	±32,68	ns
HDL (mg/dl)	43,00	±7,45	43,43	±7,44	ns
LDL (mg/dl)	99,40	±34,20	91,27	±27,21	ns
TG (mg/dl)	122,36	±60,64	125,40	±73,04	ns
GLI (mg/dl)	91,45	±5,41	87,57	±14,07	ns
GLI120 (mg/dl)	85,63	±14,60	102,04	±19,36	<b>0,01</b>
INS (mg/dl)	20,43	±14,66	16,72	±10,66	ns
INS120 (mg/dl)	35,40	±21,98	76,07	±56,52	ns
HOMAIR	2,52	±1,70	2,24	±1,30	ns
QUICKI	0,32	±0,03	0,32	±0,03	ns
VO2 (kcal/dia)	33,43	±3,82	30,88	±5,53	ns

CA: circunferência abdominal, FCR: frequência cardíaca de repouso. PAS: Pressão Arterial Sistólica, PAD: Pressão Arterial Diastólica, %G: percentual de gordura, MM: massa magra, CT: colesterol total, TG: Triglicerídeos, GLI: glicemia basal, GLI120: glicemia após 120min, INS: insulina basal, INS120: insulina 120min,  $VO_{2max}$ : volume máximo de oxigênio, TMR: taxa metabólica de repouso.

A Tabela 4.5 mostra as diferenças nas variáveis antropométricas, metabólicas e cardiorrespiratórias antes e após 12 semanas de intervenção no grupo com e sem o polimorfismo Arg16Gly no gene *ADBR2*. Ambos os grupos apresentaram redução no TG e aumento na estatura. Apenas no grupo com o polimorfismo no gene *ADBR2* (Arg16Gly + Gly16Gly) reduziu o peso, IMC-escore Z, CA, FCR, PAS, %G, GLI120, INS, INS120, HOMA-IR e TMR, e aumento na MM, HDL-c, QUICKI e  $VO_{2max}$ ; entretanto ao ser analisado conjuntamente efeito do exercício e ausência ou presença da mutação, as variáveis não diferiram entre os grupos, demonstrando que apresentam o mesmo comportamento após uma intervenção de exercício e orientação nutricional. Não foram encontradas diferenças entre os valores iniciais e finais no PAD, CT, LD-c e GLI, em ambos os grupos.

TABELA 4.5 – VALORES DE DADOS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS DOS ÍNDIVÍDUOS COM E SEM A MUTAÇÃO ARG16GLY DO GENE *ADBR2*, ANTES E APÓS A INTERVENÇÃO

	Arg16Arg (n=11)					Arg16Gly+ Gly16Gly (n=42)						
	Inicial		Final			Inicial		Final			Grupo x Tempo	
	M	DP.	M	DP.	p	M	p	M	DP.	p	F	P
PESO (kg)	78,32	±15,59	77,09	±14,67	0,06	78,63	±17,83	77,35	±18,19	<b>0,02</b>	0,37	0,84
ESTATURA (m)	1,62	±0,08	1,63	±0,08	<b>0,01</b>	1,59	±0,09	1,60	±0,09	<b>0,000</b>	2,18	0,14
IMC-ESCORE Z	2,65	±0,47	2,51	±0,51	0,08	2,87	±0,83	2,66	±0,83	<b>0,000</b>	0,58	0,45
CA (cm)	97,03	±9,90	95,76	±9,00	0,27	99,96	±12,50	96,38	±13,14	<b>0,0004</b>	1,25	0,26
FCR (bpm)	83,10	±11,22	78,00	±7,36	0,14	84,46	±12,63	76,76	±12,62	<b>0,000</b>	0,66	0,42
PAS (mmHg)	113,10	±12,31	105,00	±12,31	0,05	107,80	±16,07	106,90	±14,27	<b>0,001</b>	2,01	0,16
PAD (mmHg)	73,20	±9,94	73,20	±9,94	0,34	69,35	±11,84	69,36	±11,57	0,61	0,20	0,65
%G	39,02	±5,73	37,35	±4,46	0,36	38,85	±4,77	37,14	±5,10	<b>0,000</b>	2,65	0,11
MM (kg)	48,38	±8,19	50,78	±7,25	0,32	44,86	±9,05	45,96	±8,67	<b>0,001</b>	3,68	0,06
CT (mg/dl)	163,54	±39,68	164,45	±40,46	0,65	159,47	±32,68	156,79	±31,45	0,39	0,46	0,48
HDL (mg/dl)	43,00	±7,45	47,54	±8,28	0,08	43,43	±7,44	49,33	±9,67	<b>0,0003</b>	0,32	0,57
LDL (mg/dl)	99,40	±34,20	100,16	±33,61	0,51	91,27	±27,21	88,65	±25,23	0,49	0,86	0,35
TG (mg/dl)	122,36	±60,64	92,09	±52,21	<b>0,04</b>	125,40	±73,04	99,27	±64,07	<b>0,0002</b>	0,02	0,88
GLI (mg/dl)	91,45	±5,41	90	±5,49	0,43	87,57	±14,07	86,75	±13,30	0,80	0,15	0,68
GLI120 (mg/dl)	85,63	±14,60	84,63	±14,60	0,30	102,04	±19,36	88,95	±15,11	<b>0,000</b>	1,46	0,23
INS (mg/dl)	20,43	±14,66	14,68	±8,83	0,46	16,72	±10,66	14,77	±10,21	<b>0,01</b>	0,17	0,67
INS120 (mg/dl)	35,40	±21,98	26,30	±15,19	0,10	76,07	±56,52	44,31	±31,82	<b>0,0004</b>	0,01	0,91
HOMAIR	2,52	±1,70	1,94	±1,21	0,47	2,24	±1,30	1,87	±1,15	<b>0,003</b>	1,69	0,20
QUICKI	0,32	±0,03	0,33	±0,03	0,78	0,32	±0,03	0,33	±0,03	<b>0,0007</b>	1,86	0,18
VO2 (ml/Kg/min)	33,43	±3,82	35,49	±5,85	0,09	30,88	±5,53	35,54	±6,97	<b>0,000</b>	0,35	0,55
TMR (kcal/dia)	1784,14	±363,35	1690,43	±321,01	0,88	1556,52	±232,93	1497,343	±161,18	<b>0,01</b>	0,79	0,37

CA: circunferência abdominal, FCR: frequência cardíaca de repouso. PAS: Pressão Arterial Sistólica, PAD: Pressão Arterial Diastólica, %G: percentual de gordura, MM: massa magra, CT: colesterol total, TG: Triglicerídeos, GLI: glicemia basal, GLI120: glicemia após 120min, INS: insulina basal, INS120: insulina 120min, VO<sub>2max</sub>: volume máximo de oxigênio, TMR: taxa metabólica de repouso.

#### 4.4.3 Efeito do exercício físico e orientação nutricional e polimorfismo Gln27Glu no gene *ADBR2*

Do total da amostra apenas 36 participantes tiveram o genótipo do polimorfismo Gln27Glu no gene *ADBR2* determinados, deste total, 19 (nove meninos e 10 meninas; 52,7%) apresentavam o genótipo Gln27Gln e oito apresentaram o genótipo Gln16Glu (seis meninos e dois meninas; 22,2%) e nove apresentaram o genótipo Glu27Glu (cinco meninos e quatro meninas; 25,1%). Para comparar as variáveis entre os grupos foi necessário unir os portadores do alelo 27Glu em um grupo (Gln27Glu +Glu27Glu). Ao comparar os valores iniciais a PAS, PAD e TG foram maiores nos portadores da mutação no gene *ADBR2* (Gln27Glu+Glu27Glu). As variáveis de idade, peso, estatura, IMC-escore Z, CA, FCR, %G, MM, CT, HDL, LDL, glicemia basal, glicemia 120min, insulina basal, insulina 120min, QUICKI, VO<sub>2max</sub> e TMR foram semelhantes entre os grupos (TABELA 4.6).

TABELA 4.6 VALORES DE DADOS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS INICIAIS DOS INDIVÍDUOS COM E SEM A MUTAÇÃO DO GENE *ADBR2* (GLN27GLU)

	Gln27Gln (n=19)		Gln27Glu+Glu27Glu (n=17)		P
	M	DP	M	DP	
PESO (kg)	76,9	±18,58	82,87	±16,74	Ns
ESTATURA (m)	1,58	±0,09	1,64	±0,10	<b>0,04</b>
IMC-ESCORE Z	2,82	±0,85	2,71	±0,64	Ns
CA (cm)	97,55	±11,23	100,48	±12,36	Ns
FCR (bpm)	82,68	±12,32	83,94	±13,07	Ns
PAS (mmHg)	105,59	±13,43	117,00	±14,04	<b>0,009</b>
PAD (mmHg)	69,50	±9,13	74,47	±10,89	<b>0,01</b>
%G	37,86	±4,72	37,37	±6,20	Ns
MM (kg)	46,79	±8,76	50,48	±8,86	Ns
CT (mg/dl)	155,47	±34,04	171,47	±30,51	Ns
HDL (mg/dl)	42,89	±5,55	41,04	±6,16	Ns
LDL (mg/dl)	91,48	±27,88	99,01	±32,47	Ns
TG (mg/dl)	112,63	±60,33	157,53	±74,50	<b>0,05</b>
GLICEMIA (mg/dl)	90,21	±8,05	86,34	±7,57	Ns
GLI120 (mg/dl)	96,68	±16,32	97,53	±23,39	Ns
INS (mg/dl)	14,90	±7,83	22,71	±15,47	Ns
INS120 (mg/dl)	60,54	±31,84	67,86	±49,04	Ns
HOMAIR	1,93	±0,93	2,80	±1,80	Ns
QUICKI	0,32	±0,04	0,30	±0,02	Ns
VO <sub>2</sub> (ml/Kg/min)	30,75	±4,51	34,30	±5,36	Ns
TMR (kcal/dia)	1622,55	±328,42	1743,13	±254,49	Ns

CA: circunferência abdominal, FCR: frequência cardíaca de repouso. PAS: Pressão Arterial Sistólica, PAD: Pressão Arterial Diastólica, %G: percentual de gordura, MM: massa magra, CT: colesterol total, TG: Triglicerídeos, GLI: glicemia basal, GLI120: glicemia após 120min, INS: insulina basal, INS120: insulina 120min, VO<sub>2max</sub>: volume máximo de oxigênio, TMR: taxa metabólica de repouso.

O percentual de participantes que apresentaram alteração na pressão arterial sistólica e diastólica não diferiu entre os grupos com e sem o polimorfismo Gln27Glu no gene *ADBR2* ( $\chi^2=0,15$ ,  $p=0,68$ ;  $\chi^2=0,01$ ,  $p=0,91$ , respectivamente). Após 12 semanas de intervenção os valores de CA, PAS, %G, INS120 e HOMA-IR reduziram tanto no grupo com o polimorfismo (Gln27Glu +Glu27Glu) quanto no grupo usual (Gln27Gln), apresentando resultados semelhantes entre os grupos. Houve aumento na estatura, HDL-c e QUICKI em ambos os grupos. Não foram encontradas diferença na MM, CT, LDL-c, GLI e TMR, nos dois grupos com e sem o polimorfismo no gene *ADBR2*. Não foram encontradas diferenças, em ambos os grupos, quando comparados os valores de LDL-c e GLI. Os valores de peso, FCR e PAD reduziram apenas no grupo com a mutação no gene *ADBR2* (Gln27Glu +Glu27Glu), já as reduções nos valores de TG, GLI120, INS, INS120 E HOMA-IR, e aumento no  $VO_{2max}$  ocorreu apenas no grupo sem a mutação; entretanto ao avaliar efeito do exercício conjuntamente com ausência ou presença da mutação não houve diferenças. A PAS ( $F=3,24$ ,  $p=0,08$ ) e o TG ( $F=3,70$ ,  $p=0,06$ ) apresentaram uma tendência a diferirem ao avaliar conjuntamente o efeito do exercício e ausência ou presença da mutação.

TABELA 4.7 – VALORES DE DADOS ANTROPOMÉTRICOS E METABÓLICOS DOS ÍNDIVÍDUOS COM E SEM A MUTAÇÃO GLN27GLY DO GENE *ADBR2*, ANTES E APÓS A INTERVENÇÃO

	Gln27Gln (n=19)					Gln27Glu+Glu27Glu (n=17)					Entre grupos	
	Inicial		Final		P	Inicial		Final		P	F	p
PESO (kg)	76,9	±18,58	76,02	±18,58	0,53	82,87	±16,74	80,85	±16,06	<b>0,04</b>	2,61	0,11
ESTATURA (m)	1,58	±0,09	1,60	± 0,09	<b>0,0001</b>	1,64	±0,10	1,65	±0,10	<b>0,0001</b>	1,37	0,64
IMC-SCORE Z	2,82	±0,85	2,64	±0,94	<b>0,0001</b>	2,71	±0,64	2,55	±0,75	0,08	0,05	0,81
CA (cm)	97,55	±11,23	95,06	±12,85	<b>0,03</b>	100,48	±12,36	97,88	±12,42	<b>0,05</b>	0,31	0,58
FCR (bpm)	82,68	±12,32	76,78	±11,90	0,06	83,94	±13,07	74,71	±9,51	<b>0,004</b>	0,73	0,40
PAS (mmHg)	105,59	±13,43	107,56	±14,20	<b>0,008</b>	117,00	±14,04	106,52	±14,58	<b>0,006</b>	3,24	<b>0,08</b>
PAD (mmHg)	69,50	±9,13	70,34	±9,71	0,86	74,47	±10,89	67,29	±12,84	<b>0,04</b>	1,36	0,20
%G	37,86	±4,72	36,36	±5,32	<b>0,01</b>	37,37	±6,20	35,25	±5,99	<b>0,02</b>	0,23	0,63
MM (kg)	46,79	±8,76	47,95	±8,94	0,09	50,48	±8,86	51,98	±8,77	0,67	1,10	0,30
CT (mg/dl)	155,47	±34,04	156,16	±31,05	0,91	171,47	±30,51	168,41	±31,71	0,51	0,25	0,62
HDL (mg/dl)	42,89	±5,55	49,42	±8,30	<b>0,0003</b>	41,04	±6,16	48,56	±9,67	<b>0,003</b>	0,13	0,72
LDL (mg/dl)	91,48	±27,88	91,42	±30,84	0,87	99,01	±32,47	94,78	±28,21	0,47	0,41	0,53
TG (mg/dl)	112,63	±60,33	79,11	±38,23	<b>0,001</b>	157,53	±74,50	131,53	±72,77	0,23	3,70	<b>0,06</b>
GLICEMIA (mg/dl)	90,21	±8,05	89,84	±8,29	0,84	86,34	±7,57	87,88	±7,98	0,41	0,52	0,48
GLI120 (mg/dl)	96,68	±16,32	89,71	±13,80	<b>0,02</b>	97,53	±23,39	97,69	±18,26	0,41	0,62	0,43
INS (mg/dl)	14,90	±7,83	12,34	±7,81	<b>0,01</b>	22,71	±15,47	17,06	±11,16	0,12	0,80	0,37
INS120 (mg/dl)	60,54	±31,84	39,93	±26,44	<b>0,001</b>	67,86	±49,04	49,77	±34,02	0,07	0,39	0,54
HOMAIR	1,93	±0,93	1,64	±1,06	<b>0,04</b>	2,80	±1,80	2,13	±1,31	0,08	1,63	0,21
QUICKI	0,32	±0,04	0,34	±0,05	<b>0,003</b>	0,30	±0,02	0,32	±0,02	<b>0,03</b>	00	0,97
VO2 (ml/Kg/min)	30,75	±4,51	35,95	±6,07	<b>0,007</b>	34,30	±5,36	36,90	±7,70	0,31	0,92	0,34
TMR (kcal/dia)	1622,55	±328,42	1607	±285,85	0,70	1743,13	±254,49	1727,44	±286,73	0,71	00	0,99

CA: circunferência abdominal, FCR: frequência cardíaca de repouso. PAS: Pressão Arterial Sistólica, PAD: Pressão Arterial Diastólica, %G: percentual de gordura, MM: massa magra, CT: colesterol total, TG: Triglicerídeos, GLI: glicemia basal, GLI120: glicemia após 120min, INS: insulina basal, INS120: insulina 120min, VO<sub>2max</sub>: volume máximo de oxigênio, TMR: taxa metabólica de repouso.

## 4.5 DISCUSSÃO

O presente estudo teve como objetivo investigar o papel da mutação no receptor  $\beta 3$  localizado no peptídeo 64 (Trp64Arg) e do receptor  $\beta 2$  nas posições 16 (Arg16Gly) e 27 (Gln27Glu) nos efeitos obtidos por tratamento multidisciplinar com 12 semanas de exercício físico e orientação nutricional. Os principais trabalhos que avaliaram os polimorfismos Trp64Arg no gene *ADBR3*, Arg16Gly e Gln27Glu do gene *ADBR2* e sua influencia nas respostas quanto às variáveis antropométricas, cardiorrespiratórias e metabólicas apresentam resultados controversos.

### 4.5.1 Comparação dos dados iniciais e finais entre grupo com e sem a mutação Trp64Arg no gene *ADBR3*

Na literatura, diversos são os estudos indicando a prática de exercícios físicos associados à reeducação alimentar como tratamento e prevenção da obesidade infantil. Parte destas recomendações é devida aos resultados positivos alcançados, sejam em curto ou longo prazo, na vida das crianças estudadas. Um estudo de meta-análise demonstrou que as intervenções no estilo de vida para o tratamento pediátrico do excesso de peso pode produzir mudanças importantes e clinicamente significativas no estado de saúde em curto prazo (WILFLEY, *et al.*, 2007).

Os dados do presente estudo revelam que após a intervenção houve redução nas variáveis antropométricas de peso, IMC-escore Z, circunferência abdominal e percentual de gordura, assim como aumento da estatura e massa magra. Outros estudos com intervenções em adolescentes obesos demonstram resultados semelhantes (POETA *et al.*, 2012; LAZZER *et al.*, 2005; MEYER *et al.*, 2006; CARREL *et al.*, 2005).

O exercício físico no tratamento de indivíduos obesos tem papel fundamental para manutenção da massa magra, logo, da taxa metabólica de repouso (ACSM, 2006). O principal problema de programas para redução do peso que envolve somente dieta é a diminuição da massa magra e, conseqüentemente da taxa metabólica de repouso. Sothorn *et al.* (1999) realizaram um estudo com crianças obesas submetidas a um tratamento multidisciplinar que incluía dieta, exercícios aeróbios e anaeróbios e foram encontradas redução do peso e da

gordura corporal, sem alterações na taxa metabólica de repouso e na massa magra. No presente estudo os valores de massa magra aumentaram e taxa metabólica de repouso não se alteraram após as 12 semanas de exercício físico e orientação nutricional.

As variáveis cardiorrespiratórias como  $VO_{2max}$  e FCR podem modificar com o treinamento de exercício aeróbio por adaptação fisiológica (ROWLAND, VARZEAS, WALSH, 1991). Os dados deste estudo demonstram o aumento de aproximadamente 13,5% no  $VO_{2max}$  após a intervenção, sugere-se que esse aumento se deve a participação nos exercícios aeróbio propostos nesta pesquisa.

Nos programas com exercício físico para crianças e adolescentes obesos, existe multiplicidade de resultados no que se refere às alterações no perfil lipídico e metabólico. Trabalhos têm demonstrado que os níveis de CT e LDL-c não são afetadas com a prática de exercício físico, mas podem alterar as suas subfrações (KANG *et al.*, 2001). O efeito mais evidente está na redução do TG e aumento do HDL-c (THOMAS *et al.*, 2007; HARDIN *et al.*, 1997). No presente estudo houve redução apenas no TG e aumento do HDL-c. Não houve alteração nos valores de CT e LDL-c.

Existem poucos estudos que avaliaram os efeitos de programas com mudança no estilo de vida em crianças e adolescentes sobre a insulina, e os resultados são controversos. Um estudo relatou a redução nos valores de insulinemia e HOMA-IR após intervenção com exercício e dieta apenas no grupo que perdeu peso ( $> 0,5$  IMC-escore Z) (REINEHR *et al.*, 2004). Outro estudo com intervenção não encontrou alterações nos valores de insulina após oito meses de intervenção (KANG *et al.* 2001). Neste estudo houve a redução nos valores de insulina, insulina 120min, HOMA-IR e glicemia 120min e aumento nos valores de QUICKI após a intervenção. A glicemia não se alterou, pois seus valores já estavam adequados.

#### 4.5.2 Comparação dos dados iniciais e após intervenção no grupo com e sem o polimorfismo Trp64Arg no gene *ADBR3*

A associação do polimorfismo Trp64Arg no gene *ADBR3* com obesidade ou ganho de peso tem sido estudada, mas os resultados são controversos. Alguns trabalhos relataram uma relação entre a presença do alelo Arg64 no gene *ADBR3* e



valores elevados IMC, perfil lipídico alterado e altos valores de glicemia (ARASHIDO *et al.*, 2003). Outros estudos não encontraram essa relação (KOROKAWA *et al.*, 2003; CHUN *et al.*, 2012). Neste estudo os resultados antropométricos iniciais demonstram que a mutação Trp64Arg não foi associada à obesidade na fase infanto-juvenil.

Os valores de perfil lipídico como CT, HDL, LDL e TG, assim como metabólicos, glicemia basal, insulina basal, insulina 120min, QUICKI, TMR e pressóricos também foram semelhantes entre os grupos. Resultados semelhantes foram encontrados no trabalho de Erhardt *et al.* (2005), havendo discordância somente nos resultados de insulina, pois os autores encontraram maiores valores no grupo com a mutação e no presente estudo não foi verificada essa diferença.

Não foram encontrados estudos de intervenção com exercício físico e orientação nutricional em crianças que avaliassem as influências dos polimorfismos Trp64Arg no gene *ADBR3* e as respostas metabólicas. Desta forma, os resultados do presente estudo serão comparados aos trabalhos realizados em adultos, uma limitação que deve ser considerada.

Os estudos do efeito da mutação Trp64Arg no gene *ADBR3* trazem resultados divergentes. Alguns estudos relatam que os portadores do alelo Arg64 no gene *ADBR3* apresentam maior resistência à perda de peso após programa de intervenção com dieta (XINLI *et al.*, 2001; LUIS *et al.* 2009) e/ou exercício físico (SHIWAKU *et al.*, 2003; LUIS *et al.*, 2007; TAHARA, OSAKI e KISHIMOTO, 2011). Entretanto, outros estudos não confirmaram esta associação com a perda de peso e o polimorfismo Trp64Arg (GARENC *et al.* 2001; BEA *et al.*, 2010).

Entre os estudos que encontraram relação entre a dificuldade de perder peso e o variante Trp64Arg está o estudo de Shiwaku *et al.*, (2003). Nesse estudo, 76 mulheres japonesas participaram de programa que as incentivava a caminhar 7000 passos por dia e a uma alimentação saudável. O objetivo dos autores era investigar se as respostas sobre a perda de peso após intervenção seria diferente nas mulheres com e sem a mutação Trp64Arg. Os resultados demonstraram que apenas o grupo de mulheres sem a mutação no gene *ADBR3* (Trp64Trp) apresentaram redução no peso corporal, IMC e circunferência da cintura, após a intervenção. Entre os parâmetros bioquímicos, o HDL-C (P=0.001) aumentou em ambos os grupos e o LDL-C (P = 0,003) reduziu apenas nas mulheres portadoras da mutação Trp64Arg. As mudanças nos valores de insulina, glicose e HOMA-IR foram

observadas em ambos os grupos de mulheres com e sem a mutação Trp64Arg após a intervenção.

Outro estudo japonês também utilizou caminhada com pedômetro em sua intervenção e avaliou o efeito do polimorfismo Trp64Arg nas repostas das variáveis de síndrome metabólica em um grupo de homens japoneses submetidos a programa de atividade física (TAHARA, OSAKI E KISHIMOTO, 2011). Para o estudo foram selecionados 36 homens japoneses com síndrome metabólica. O grupo participou de programa que incentivava a prática de atividade física com a meta diária de 10.000 passos. Para esse estudo não houve intervenção na alimentação. Nos dados iniciais os valores de Glicemia e insulina foram mais elevadas no grupo Trp64Arg. Após a intervenção os índices de melhora da glicemia e insulina foram maiores no genótipo Trp64Arg. Não houve diferença nas variáveis antropométricas e metabólicas como IMC, circunferência abdominal, PAS, PAD, CT, Triglicerídeos, LDL-c e HDL-c entre os japoneses com e sem a mutação Trp64Arg.

Luis *et al.* (2007) também avaliaram a influência do polimorfismo do gene *ADBR3* em adultos obesos após intervenção com dieta e exercícios aeróbios. Nesse estudo foram avaliados 65 obesos, sendo 18 homens e 47 mulheres, a média de idade de  $45,8 \pm 16,8$  anos e IMC de  $34,4 \pm 4,6 \text{ kg/m}^2$ . A intervenção foi composta por caminhadas com duração de 2/3h por semana e a alimentação foi avaliada por inquérito alimentar. Os resultados demonstraram que em ambos os grupos houve redução no IMC, peso, massa de gordura, PAS e circunferência de cintura. Além disso, houve aumento na taxa metabólica de repouso e  $\text{VO}_{2\text{max}}$ . Entretanto, os níveis de glicose e HOMA diminuíram apenas no grupo sem a mutação Trp64Arg, no grupo portador da mutação não houve alteração. Os valores de LDL-c, HDL-c, TG e insulina não se alteram em ambos os grupos. No grupo mutante, todos os parâmetros permaneceram inalterados.

Resultados de estudos realizados envolvendo dieta hipocalórica e exercício em grupos que apresentavam a mutação Trp64Arg demonstram haver ampla variedade de respostas. Um estudo que utilizou apenas o exercício físico e teve controle maior na intensidade e duração do exercício foi o estudo de Garenc *et al.*, (2001). Esse trabalho avaliou a associação entre o polimorfismo Trp64Arg e as alterações na composição corporal em resposta ao treinamento aeróbio. Para isso foram selecionados 751 adultos (323 homens e 428 mulheres) e avaliados antes e após 20 semanas de treinamento aeróbio. O programa de treino foi composto por 20

semanas, com sessões três vezes por semana, sendo que cada sessão era composta por 50 min de atividade aeróbia em ciclo ergômetro a intensidade de 55% do  $VO_{2max}$  e aumentando gradativamente para 75% do  $VO_{2max}$ . Os resultados demonstraram que em ambos os grupos, com e sem a mutação Trp64Arg, nos homens e mulheres, houve redução do IMC, percentual de gordura, gordura visceral e a gordura abdominal total. Os resultados sugerem que o polimorfismo Trp64Arg não está associado a mudanças na composição corporal em resposta ao exercício de resistência.

O único estudo encontrado que teve como objetivo avaliar, em crianças, o efeito da mutação Trp64Arg na perda de peso após intervenção com dieta foi o estudo de Xinli *et al.* (2001). Foram avaliadas 47 crianças obesas com idades entre 8-11 anos, sendo 36 do grupo exercício e 11 do grupo controle. Os resultados desse estudo revelaram que após três meses de alimentação hipocalórica o grupo que não participou da intervenção aumentou os valores de peso e IMC da mesma maneira que o grupo portador da mutação Trp64Arg. O aumento foi aproximadamente  $1,55\text{kg/m}^2$  no IMC do grupo controle e  $1,47\text{ kg/m}^2$  nos portadores da mutação Trp64Arg (*ADBR3*). No grupo sem a mutação o aumento no IMC foi de  $0,47\text{kg/m}^2$ .

No presente estudo, os resultados indicam que o polimorfismo Trp64Arg no gene *ADBR3* não influenciou nas respostas à intervenção, quanto às variáveis antropométricas, cardiorrespiratória e de perfil lipídico. A melhora no perfil lipídico e capacidade cardiorrespiratória e a redução do peso ocorreram em ambos os grupos com e sem o polimorfismo estudado.

#### 4.5.3 Efeito da mutação no gene *ADBR3* (Trp64Arg) e resistência à insulina

O receptor  $\beta$ 3-adrenérgico possui papel na lipólise e controle do gasto energético. Efeito antidiabético atribuído ao receptor *ADBR3* é baseado em estudos que administraram o agonista do receptor *ADBR3* para ratos diabéticos, e esse apresentaram redução na resistência à insulina (ARBEENY *et al.*, 1995; HYUNSOON *et al.*, 2005). Baseado nesses achados, alguns trabalhos avaliaram o efeito mutação Trp64Arg do gene *ADBR3* sobre a resistência à insulina e desenvolvimento da diabetes mellitus do tipo II.

Em humanos, muito resultados são controversos. Para a avaliação da resistência à insulina estudos tem comparado os valores de HOMA-IR. O HOMA-IR

(*Homeostasis Metabolic Assessment*) é um modelo matemático que prediz a sensibilidade à insulina pelas simples medidas da glicemia e da insulina em jejum e tem boa correlação com o método do *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico, considerado padrão-ouro na medida da sensibilidade à insulina (GELONESE, TAMBASCIA, 2006).

Buettner *et al.* (1998) não encontraram relação entre o polimorfismo no *ADBR3* e distúrbios metabólicos como diabetes tipo II em uma amostra de 1.259 alemães (BUETTNER *et al.* 1998). Corroborando com esses resultados, outros estudos não encontraram relação entre o polimorfismo e o aumento da resistência à insulina (HOJLUND *et al.*, 2005; ZHO *et al.* 2010).

Em crianças, pesquisas que investigaram a associação de Trp64Arg com a resistência à insulina demonstraram resultados controversos. Em um estudo com crianças alemãs os valores de HOMA-IR foram semelhantes entre os grupos com e sem o polimorfismo, contudo em crianças obesas húngaras e japonesas os valores de HOMA-IR foram mais elevados nas crianças portadoras do alelo Arg64 em comparação com aquelas sem a mutação (ERHARDT *et al.*, 2005; OGURI *et al.*, 2013), concordando com os achados do presente estudo.

Os valores de sensibilidade à insulina e de glicose no exercício físico são diferentes daqueles observados no metabolismo em repouso (WILMORE, COSTIL; 2001). Luis *et al.* (2007) avaliaram o efeito do exercício físico e dieta hipocalórica sobre a resistência insulínica em grupo de obesos com e sem a mutação Trp64Arg. Os resultados demonstraram que apenas inicialmente os valores de HOMA-IR foram semelhantes entre os grupos com e sem a mutação, porém, após a intervenção apenas o grupo sem o alelo 64Arg apresentou redução no HOMA-IR.

No presente estudo, os valores iniciais de glicemia 120min e HOMA-IR foram maiores no grupo portador da mutação (Trp64Arg + Arg64Arg) quando comparado ao grupo sem a mutação. Entretanto, após a intervenção o HOMA-IR reduziu em ambos os grupos, porém em proporções maiores no grupo com a mutação quando comparado ao grupo sem a mutação, respectivamente, 39,4% e 13%.

O metabolismo de glicose está diretamente relacionado à composição corporal, ou seja, a alteração na mesma pode provocar modificações no metabolismo da glicose. No presente estudo, os grupos apresentaram variações no IMC-escore Z, CA e %G semelhantes, demonstrando que a maior redução do

HOMA-IR no grupo com a mutação no gene *ADBR3* parece não estar ligada a alterações das variáveis antropométricas e sim à resposta diferenciada ao exercício físico. Sugere-se que a resistência insulínica seja influenciada pela presença do alelo 64Arg no gene *ADBR3*. Entretanto, como no exercício físico existe o aumento na sensibilidade da insulina devido à ativação em maior quantidade ou disponibilidade de receptores da insulina, (WILMORE, COSTILL, 2001) o efeito causado pela presença do alelo 64Arg sobre a resistência à insulina é minimizado.

#### 4.5.4 Comparação dos dados iniciais e finais no grupo com e sem o polimorfismo Arg16Gly e Gln27Glu no gene *ADBR2*

Assim como no *ADBR3*, a mutação Arg16Gly no gene *ADBR2* tem sido associada com a obesidade e alterações metabólicas relacionadas (MATTEVI *et al.*, 2006; ELLSWOTH *et al.*, 2002; DAGHESTANI *et al.*, 2012). Chou *et al.* (2012) encontraram IMC menor nas crianças com o alelo 16Gly, demonstrando a discordância entre os achados. No presente estudo, as variáveis antropométricas, pressóricas e de perfil lipídico foram semelhantes entre os grupos. Nas variáveis metabólicas a GLI120 foi superior no grupo portador do alelo 16Gly e as demais variáveis não diferiram. Até o momento não foram encontrados estudos que avaliaram a relação da mutação Arg16Gly (*ADBR2*) com a glicemia aos 120 minutos após a ingestão de glicose.

A hipertensão arterial foi relacionada com o polimorfismo Gln27Glu no gene *ADBR2* em obesos mórbidos (Villares *et al.*, 2000). Corroborando com esses achados, neste estudo os valores iniciais de PAS e PAD foram maiores nos portadores da mutação (Gln27Glu +Glu27Glu). Os valores de TG também foram mais elevados entre os portadores da mutação (Gln27Glu +Glu27Glu). Outros trabalhos também relataram valores de TG mais elevados no grupo portador do alelo 27Glu quando comparados ao grupo sem a mutação (ISHIYAMA-SHIGEMOTO *et al.*, 1999; MACHO-AZCARATE *et al.*, 2002). As demais variáveis como peso, estatura, IMC-escore Z, CA, FCR, %G, MM, CT, HDL, LDL, glicemia basal, glicemia 120min, insulina basal, insulina 120min, QUICKI,  $VO_{2max}$  e TMR foram semelhantes entre os grupos.

Foram encontrados apenas dois estudos de intervenção relacionados aos polimorfismos no gene *ADBR2*, um com dieta e o outro com exercício aeróbio,

porém nenhum em crianças. Ruiz *et al.* (2011) avaliaram o efeito das mutações Arg16Gly e Gln27Glu no gene *ADBR2* sobre as respostas metabólicas de 78 mulheres obesas submetidas à dieta hipocalórica por 12 semanas. Os resultados revelaram que o grupo com a mutação Gln27Glu no gene *ADBR2* apresentou maior redução no peso corporal, IMC e massa magra quando comparado ao grupo sem a mutação. A resposta da taxa metabólica de repouso e circunferência abdominal foi similar entre os grupos. Não foram encontradas diferenças nas repostas das variáveis antropométricas e metabólicas quando avaliado o polimorfismo Arg16Gly.

Phares *et al.* (2000) avaliaram a contribuição dos polimorfismos nos receptores ADBR (Glu12/Glu9 alfa2b- ADBR, Trp64Arg ADBR3, e Gln27Glu ADBR2) na variabilidade na resposta ao treinamento aeróbio. Na intervenção as mulheres participaram de 24 semanas de exercício aeróbio supervisionado e dieta hipocalórica. Nos resultados os genes foram combinados, sem a comparação do efeito individual de cada gene. Os autores concluíram que os fatores genéticos combinados explicaram 17,5% da variabilidade da gordura corporal total, 22% para a gordura no tronco e 10% de massa de gordura.

Os resultados do presente estudo demonstram que as variáveis antropométricas, metabólicas, aptidão cardiorrespiratória e PAD não foram influenciadas pelos polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu no gene *ADBR2*. A PAS ( $F=3,24$ ;  $p=0,08$ ) e TG ( $F=3,70$ ;  $p=0,06$ ) reduziram em ambos os grupos, porém apresentaram uma tendência de valores mais acentuados no grupo com o polimorfismo Gln27Glu no gene *ADBR2* após a intervenção. Villares *et al.* (2000) sugere que a presença do polimorfismo Gln27Glu altere o relaxamento vascular e contribua para a instalação da hipertensão arterial em obesos mórbidos. Masuo *et al.* (2005) relatam que após acompanhar por cinco anos uma amostra de 160 normotensos eutróficos, os portadores do alelo 27Gly (*ADBR2*) apresentaram maiores valores de norepinefrina. Os autores concluem que a associação do polimorfismo no gene *ADBR2* com aumento na atividade da norepinefrina poderia prever o desencadeamento da obesidade e hipertensão nessa amostra.

O exercício físico crônico é recomendado como tratamento para indivíduos hipertensos. Um estudo com jovens normotensos constatou que após 10 semanas de exercício físico, além de diminuição na pressão arterial sistólica e diastólica, houve redução significativa na atividade nervosa simpática (36%). No grupo controle, que não realizou exercício, esse fato não foi observado (GRASSI *et al.*

1994). Até o momento, não foram encontrados estudos com intervenção que avalie o efeito do exercício físico em portadores do polimorfismo Gln27Glu (*ADBR2*). Assim, sugere-se que o treinamento físico minimize o efeito do polimorfismo Gln27Glu (*ADBR2*) sobre a PAS.

Assim como a pressão arterial, o triglicerídeo pode se alterar após um tratamento com exercício físico e orientação nutricional. Leite et. al. (2009) avaliaram o efeito de exercícios aeróbios e orientação nutricional em amostra com e sem síndrome metabólica e os resultados demonstraram que em ambos os grupos houve redução nos valores de TG. Desta forma, é possível que o alelo 27Glu tenha efeito no TG em indivíduos sedentários, e que com o treinamento aeróbio o efeito do polimorfismo seja minimizado.

A carência de trabalhos que avaliem o efeito dos polimorfismos no gene *ADBR2* nas repostas metabólicas em obesos submetidos à intervenção com dieta e exercício físico dificultaram a comparação dos resultados deste trabalho.

#### 4.6 CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo demonstraram que existe relação da presença de resistência insulínica em crianças e adolescentes com excesso de peso quando portadores da mutação no gene *ADBR3* (Trp64Arg). Esta condição foi amenizada com a prática de exercícios físicos e orientação nutricional, o que sugere utilizá-los como estratégia na melhora da sensibilidade à insulina, minimizando o efeito do polimorfismo *ADBR3*.

Além disso, no polimorfismo Gln27Glu (*ADBR2*) os valores mais elevados da PAS e TG nos portadores da mutação também apresentaram tendência a maiores reduções no grupo portador da mutação. Neste caso, o exercício e a orientação nutricional também pareceram eficientes na redução dos valores. Provavelmente algumas alterações são mais evidentes no grupo com excesso de peso sedentário, à medida que o treinamento físico ocorre algumas diferenças desapareceram.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O primeiro objetivo deste estudo foi avaliar a frequência do polimorfismo Trp64Arg do gene  $\beta$ 3-adrenérgico (*ADBR3*) e Arg16Gly e Gln27Glu no gene do receptor  $\beta$ 2-adrenérgico (*ADBR2*) em crianças e adolescentes e suas relações com as variáveis antropométricas e metabólicas. Os grupos com e sem mutações nos genes *ADBR2* (Arg16Gly, Gln27Glu) e *ADBR3* (Trp64Arg) apresentaram valores semelhantes para as variáveis da composição corporal (peso, IMC-escore Z e circunferência abdominal). Nas variáveis metabólicas e de perfil lipídico os grupos com e sem a mutação Arg16Gly no gene *ADBR2* apresentaram valores semelhantes. Entretanto, na mutação Gln27Glu do gene *ADBR2* houve diferenças nos valores de TG, o grupo com a mutação demonstrou valores mais elevados do que o grupo sem o polimorfismo.

No gene *ADBR3* o polimorfismo estudado demonstrou ser fator de proteção para o aumento da glicemia nas meninas, apesar de ambos os grupos apresentarem valores adequados. As frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo Trp64Arg do gene *ADBR3*, Arg16Gly e Gln27Glu do gene *ADBR2* das crianças e adolescentes foram semelhantes com os achados de outro estudo realizado em adultos do Sul do Brasil.

O segundo objetivo foi investigar o papel do polimorfismo Trp64Arg do gene *ADBR3* e Arg16Gly e Gln27Glu no gene *ADBR2* na obesidade precoce e sua resposta quanto as variáveis antropométricas, cardiorrespiratória e metabólica em amostra de adolescentes com excesso de peso submetido a tratamento multidisciplinar com 12 semanas de exercício físico e orientação nutricional. Ao avaliar os dados longitudinais a hipótese de que os portadores da mutação Trp64Arg no receptor *ADBR3* apresentariam maiores valores nas variáveis metabólicas foi confirmada apenas para o HOMA-IR e GLI120. Esses resultados sugerem relação entre a resistência insulínica em crianças e adolescente excesso de peso portadores da mutação no gene *ADBR3* (Trp64Arg). O HOMA-IR apresentou maior redução nos portadores da mutação após 12 semanas de exercícios físicos e orientação nutricional, sugerindo que o exercício físico e a orientação nutricional podem ser utilizados como estratégia na melhora da sensibilidade à insulina. As demais variáveis como peso, IMC, IMC-escore Z e percentual de gordura, pressóricas



(pressão arterial sistólica e diastólica) e de perfil lipídico apresentaram comportamentos semelhantes entre os grupos.

No polimorfismo Arg16Gly o peso, IMC, IMC-escore Z e percentual de gordura, variáveis pressóricas (pressão arterial sistólica e diastólica) e metabólicas (glicemia, insulina basal, glicemia 120min, insulina 120min, HOMA-IR, QUICKI, perfil lipídico) após 12 semanas de exercícios físicos e orientação nutricional apresentaram comportamentos similares entre os grupos, não demonstrando influência do polimorfismo nas variáveis estudadas. Além disso, no polimorfismo Gln27Glu (*ADBR2*) os valores mais elevados da PAS e TG nos portadores da mutação. Neste caso, o exercício e a orientação nutricional também tenderam a ser mais eficientes na redução dos valores no grupo portador da mutação Gln27Glu (*ADBR2*). Parece que algumas alterações são mais evidentes no grupo com excesso de peso sedentário, à medida que o treinamento físico ocorre algumas diferenças desapareceram.

Assim, este estudo é inovador por trabalhar com a interação genética e obesidade precoce, pois os resultados sugerem que o exercício físico regular e a orientação nutricional podem ser utilizados como estratégia na melhora da sensibilidade à insulina (polimorfismo Trp64Arg no receptor *ADBR3*) e na redução da pressão arterial sistólica e da concentração do triacilglicerol (polimorfismo Gln27Glu do gene *ADBR2*). Sugerem-se novas pesquisas com diferentes amostras e estilos de treinamento físico para compreender melhor o efeito da genética nas respostas ao tratamento da obesidade infanto-juvenil a fim de oferecer novas estratégias para a prevenção e tratamento personalizado.

## REFERÊNCIAS

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE (ACSM). **ACSM'S Resource Manual For Guidelines For Exercise Testing And Prescription**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006.

ANGELI, C.B.; KIMURA, L.; MARIA T. AURICCHIO, M.T.; VICENTE, J.P.; MATTEVI, V.S.; ZEMBRZUSKI, V.M.; HUTZ, M.H.; PEREIRA, A.C.; PEREIRA, T.V.; MINGRONI-NETTO, R.C. Multilocus Analyses of Seven Candidate Genes Suggest Interacting Pathways for Obesity-Related Traits in Brazilian Populations. **Obesity**, v. 19, p. 1244–1251, 2011.

ARASHIRO, R.; KATSUREN, K.; FUKUYAMA, S.; OHTA, T. Effect of Trp64Arg mutation of the beta3- adrenergic receptor gene and C161T substitution of the peroxisome proliferator activated receptor gamma gene on obesity in Japanese children. **Pediatrics International**, v. 45, n. 2, p. 135-141, 2003.

ASTRUP, A; GØTZSCHE, PC; WERKEN, KV; RANNERIES, C; TOUBRO, S; RABEN, A; BUEMANN, B. Meta-analysis of resting metabolic rate in formerly obese subjects. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, p.1117–22, 1999.

BAR-OR, O. **Pediatric Sports Medicine for the Practitioner**. New York: Springer-Verlag, p. 315-338, 1983.

BARUKI, S.B.S.; ROSADO, L.E.F.; ROSADO, G.P.; RIBEIRO, R.C.L. Associação entre estado nutricional e atividade física em escolares da Rede Municipal de Ensino em Corumbá – MS. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 12, n. 2, p. 90-94, 2006.

BEA, W.J.; LOHMAN, T.G.; CUSSLER, E.C.; GOING, S.B.; THOMPSON, P.A. Lifestyle Modifies the Relationship Between Body Composition and Adrenergic Receptor Genetic Polymorphisms, ADRB2, ADRB3 and ADRA2B: A Secondary Analysis of a Randomized Controlled Trial of Physical Activity Among Postmenopausal Women. **Behavior Genetics**, v. 40, n. 5, p. 649-659, 2010.

BOUCHARD, C; TREMBLAY, A. Genetic Influences on the Response of Body Fat and Fat Distribution to Positive and Negative Energy Balances in Human Identical Twins. **The Journal of Nutrition**, v.127, p. 943–947, 1997.

BOUCHARD, C. Childhood obesity: are genetic differences involved? **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 89, p. 1494S–501S, 2009.

BRACCO, M. M.; FERREIRA, M. B. R.; MORCILLO, A. M.; COLUGNATI, F.; JENOVES, J. Gasto energético entre crianças de escola pública obesas e não obesas. **Revista Brasileira de Ciência do Movimento**, v. 10, n. 3, p 29-35, 2002

BUETTNER, R; SCHAFFLER, A; ARNDT, H; ROGLER, G; NUSSER, J.; ZIETZ, B; ENGER, I; HUGL, S; CUK, A; SCHOLMERICH, J; PALITZSCH, KD. The Trp64Arg Polymorphism of the  $\beta$ 3-Adrenergic Receptor Gene Is Not Associated with Obesity or Type 2 Diabetes Mellitus in a Large Population-Based Caucasian Cohort. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.83, p. 2892–2897, 1998.

CARANTI, D ; DEMELLO, M ; PRADO, W ; TOCK, L ; SIQUEIRA, K ; DEPIANO, A ; LOFRANO, M ; CRISTOFALO, D ; LEDERMAN, H ; TUFIK, S ; Caranti, D. A. . Short- and long-term beneficial effects of a multidisciplinary therapy for the control of metabolic syndrome in obese adolescents. **Metabolism, Clinical and Experimental**, v. 56, p. 1293-1300, 2007

CARNEIRO, J. R. I.; KUSHNIR, M. C.; CLEMENTE, E. L. S.; BRANDÃO, M. G.; GOMES, M. B. Obesidade na adolescência: fator de risco para complicações clínico-metabólicas. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**, v. 44, n. 5, p. 390-396, 2000.

CARREL, A.; MEINEN, A.; GARRY, C.; STORANDT, R. Effect of Nutrition Education and Exercise in Obese Children: The Ho-Chunk Youth Fitness Program. **Wisconsin Medical Journal**, v. 104, n. 5, 2005.

CHOU,Y.C.; TSAI, C.N.; LEE, Y.S.; JEN-SHENG, P. Association of adrenergic receptor gene polymorphisms with adolescent obesity in Taiwan. **Pediatrics International**, v. 54, p. 111–116, 2012.

CLÉMENT, K; VAISSE, C; MANNING, BSJ; BASDEVANT, A; GUY-GRAND, A; RUIZ, J; SILVER, KD; SHULDINER, AR; FROGUEL, P; STROSBERG, D. Genetic variation in the  $\beta$ 3 -adrenergic receptor and an increased capacity to gain weight in patients with morbid obesity. **The New England Journal of Medicine**, v.4, p. 333-352, 1995.

CORDOVA, C.M.M.; SCHNEIDER, C.R.; JUTTEL, I.D.; CORDOVA, M.M. Avaliação da Dosagem Direta do Colesterol-LDL em Amostras de Sangue de 10.664 Pacientes em Comparação com o uso da Fórmula de Friedewald. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 83, n. 6, p. 476 – 481, 2004.

CORELLA, D.; GUILLEÂ N, M.; PORTOLEÂ O.; SORLIÂ , J.V.; ALONSO, V.; FOLCH, J.; SAAÂ IZ, C. Gender speciec associations of the Trp64Arg mutation in the b3-adrenergic receptor gene with obesity-related phenotypes in a Mediterranean population: interaction with a common lipoprotein lipase gene variation. **Journal of Internal Medicine**, v. 250, p. 348-360, 2001.

DAGHESTANI, M.H.; WARSY, A.; DAGHESTANI,M.H.; AL-ODAIB, A.N.; ELDALI, A.; AL-EISA, N.A. OMER, S.A.; HASSAN, Z. Arginine 16 Glycine Polymorphism in  $\beta$ 2-Adrenergic Receptor Gene is Associated with Obesity, Hyperlipidemia, Hyperleptinemia, and Insulin Resistance in Saudis. **International Journal of Endocrinology**, v. 2012, p. 1-8, 2012.

DEFORCHE, B.; LEFEVRE, J.; BOURDEAUDHUIJ, I. D.; HILLS, A P.; DUQUET, W.; BOUCKAERT, J. Physical fitness and physical activity in obese and nonobese Flemish youth. **Obesity Research**, v. 11, p. 434–441, 2003.

DERAM, S.; VILLARES, S.M.F. Genetic variants influencing effectiveness of weight loss strategies. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**, v. 53, n. 2, p. 129-138, 2009.

DIONNE, I.J.; TURNER, A.N.; TCHERNOF, A.; POLLIN, T.I.; AVRITHI, D.; GRAY, D.; SHULDINER, A.R.; POEHLMAN, E.T. Identification of an Interactive Effect of 3- and 2b-Adrenoceptor Gene Polymorphisms on Fat Mass in Caucasian Women. **Diabetes** v. 50, p. 91–95, 2001.

EDWARDS, R.D. Public transit, obesity, and medical costs: Assessing the magnitudes. **Preventive Medicine**, v. 46, p. 14–21, 2008.

ELLSWORTH, D.L.; COADY, S.A.; CHEN, W.; SRINIVASAN, S.R.; BOERWINKLE, E.; BERENSON, G.S. Interactive Effects Between Polymorphisms in the  $\beta$ -Adrenergic Receptors and Longitudinal Changes in Obesity. **Obesity Research**, v. 13, n. 3, p. 519-526, 2005.

ERHARDT, E.; CZAKO, M.; CSERNUS, K.; MOLNA´R, D.; KOSZTOLA´NYI, G. The frequency of Trp64Arg polymorphism of the b3-adrenergic receptor gene in healthy and obese Hungarian children and its association with cardiovascular risk factors. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 59, p. 955–959, 2005.

FERNÁNDEZ, J. R.; REDDEN, D. T.; PETROBELLI, A.; ALLISON, D. B. Waist circumference percentiles in nationally representative samples of african-american,

European-American, and Mexican-American, children and adolescents. **The Journal of Pediatrics**, v. 145, p. 439-444, 2004.

FERNANDEZ, A C.; MELLO, M. T.; CASTRO, P. M.; FISBERG, M. Influência do treinamento aeróbio e anaeróbio na massa de gordura corporal de adolescentes obesos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 10, n.3, p. 152-158, 2004.

FOGELHOLM, M; VALVE, R; KUKKONEN-HARJULA, K; NENONEN, A; HAKKARAINEN, V; LAAKSO, M; UUSITUPA, M. Additive Effects of the Mutations in the  $\beta_3$ -Adrenergic Receptor and Uncoupling Protein-1 Genes on Weight Loss and Weight Maintenance in Finnish Women. **The Journal of Endocrinology and Metabolism**, v. 83, p. 4246–4250, 1998.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO - WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Energy and protein requirements. Report of a joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation. Technical Report Series 724. Geneva, Switzerland: WHO, 1985.

FRANK, L.D.; ANDRESEN, M.A.; SHMID, T.L. Obesity Relationships with Community Design, Physical Activity, and Time Spent in Cars. **American Journal of Preventive Medicine**, v. 27, n. 2, p. 87–96, 2004.

FUJISAWA, T; IKEGAMI, H.; KAWAGUCHI, Y.; OGIHARA, T. Meta-Analysis of the Association of Trp64Arg Polymorphism of  $\beta_3$ -Adrenergic Receptor Gene with Body Mass Index. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism** v. 83, n. 7, p. 2441-2444, 1998.

GAGNON, J; MAURIÈGE, P; ROY, S; SJÖSTRÖM, D; CHAGNON, YC; DIONNE, FT; OPPERT, JM; PÉRUSSE, L; SJÖSTRÖM, L; BOUCHARD, C. The Trp64Arg Mutation of the  $\beta_3$  Adrenergic Receptor Gene Has no Effect on Obesity Phenotypes in the Québec Family Study and Swedish Obese Subjects Cohorts. **The American Society for Clinical Investigation**, V. 98, N. 9, p. 2086–2093, 1996.

GARENC, C.; PÉRUSSE, L.; RANKINEN, T.; GAGNON, J.; LEON, A.S.; SKINNER, J.S.; WILMORE, J.H. RAO, D.C.; BOUCHARD, C. The Trp64Arg Polymorphism of the  $\beta_3$ -Adrenergic Receptor Gene Is Not Associated with Training-Induced Changes in Body Composition: The HERITAGE Family Study. **Obesity Research**, v. 9, n. 6, p. 337-341, 2001.

GELONEZE, B.; TAMBASCIA, M.A. Avaliação Laboratorial e Diagnóstico da Resistência Insulínica. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**, v. 50, n. 2, p. 208-215, 2006.

GUEDES, E.P.; CARRARO, L.; GODOY-MATOS, A.; LOPES, A.C. Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia. Sociedade Brasileira de Clínica Médica . Obesidade: etiologia. **Diretriz Brasileira de Obesidade**. Abeso 3ª. Ed., 2009.

GRASSI, G.; SERAVALLE, G.; CALHOUN, D.A.; MANCIA, G. Physical training and baroreceptor control of sympathetic nerve activity in humans. **Hypertension**, v. 23, p. 294-301, 1994.

HAMER, M.; CHIDA, Y. Active commuting and cardiovascular risk: A meta-analytic review. **Preventive Medicine**, v. 46, p. 9–13, 2008.

HANCOX, R.J.; MILNE, B.; POULTON, P. Association between child and adolescent television viewing and adult health: a longitudinal birth cohort study. **Lancet**, 364, p. 257–262, 2004.

HARDIN DS, HEBERT JD, BAYDEN T, DEHART M, MAZUR L. Treatment of childhood syndrome X. **Pediatrics**. 1997;100(2):E5.

HØJLUND, O.; CHRISTIANSEN, C.; BJØRNSBO, K.S.; POULSEN, P.; BATHUM, L.; HENRIKSEN, J.E.; LAMMERT, O.; BECK-NIELSEN, H. Energy expenditure, body composition and insulin response to glucose in male twins discordant for the Trp64Arg polymorphism of the  $\beta$ 3-adrenergic receptor gene. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 8, p. 322–330, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE Disponível em: <[http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia\\_visualiza.php?id\\_noticia=1699&id\\_pagina=1](http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1699&id_pagina=1)> Acesso em: 27 jan 2013.

ISHIYAMA-SHIGEMOTO, S.; YAMADA, K.; YUAN, X.; ICHIKAWA, F.; NONAKA. Association of polymorphisms in the  $\beta$ 2-adrenergic receptor gene with obesity, hypertriglyceridaemia, and diabetes mellitus. **Diabetologia**, v. 42, n.1, p. 98-101, 1999.

JANSSEN, I.; KATZMARZYK, P.; BOYCE, C.; VEREECKEN, C.; MULVIHILL, C.; ROBERTS, C.; CURRIE, W.; PICKETT, W. Comparison of overweight and obesity prevalence in school-age youth from 34 countries and their relationships with physical activity and dietary patterns. **Obesity Reviews**, v. 6, p. 123-132, 2005.

KANG HS, GUTIN B, BARBEAU P, OWENS S, LEMMON CR, ALLISON J. Physical training improves insulin resistance syndrome markers in obese adolescents. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 34, n. 12, p.1920-1927, 2002.

KATZ, A.; NAMBI, S. S.; MATHER, K.; BARON, A. D.; FOLLMANN, D. A.; SULLIVAN, G.; QUON, M. J. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 85, n. 7, p. 2402-2410, 2000.

KATO, N.; SUGIYAMA, T.; MORITA, H.; KURIHARA, H.; SATO, T.; YAMORI, Y.; YAZAKI, Y. Associação de Análise de  $\beta$  2 Polimorfismos-adrenérgicos com Hipertensão em japoneses. **Hypertension**, v. 37, p. 286-292, 2001.

KIM, O.Y.; LEE, Y.A.; RYU, H.J.; PARK, H.Y.; JANG, Y.; LEE, J.H. Effect of Trp64Arg mutation in the  $\alpha$ 3-adrenoceptor gene on body fat distribution, glycemic control and lipids in response to hypocaloric diets in men with coronary artery disease. **Nutrition Research**, 23: 1013–1025, 2003.

KIM-MOTOYAMA, H.; YASUDA, K.; YAMAGUCHI, T.; YAMADA, N.; KATAKURA, T.; SHULDINER, A.R.; AKANUMA, Y.; OHASHI, Y.; YAZAKI, Y.; KADOWAKI, T. A mutation of the  $\beta$ 3-adrenergic receptor is associated with visceral obesity but decreased serum triglyceride. **Diabetologia**, v. 40, p. 469–472, 1997.

KADOWAKI, H.; YASUDA, K.; IWAMOTO, K. A mutation in the beta 3 adrenoceptor gene is associated with obesity and hyperinsulinemia in Japanese subjects. **Biochem Biophys Res Commun** v. 215, p. 555–60, 1995.

KUCZMARSKI RJ, OGDEN CL, GUO SS, GRUMMER-STRAWN LM, *ET AL*. CDC growth charts: United States. Advance data from vital and health statistics; n. 314. Hyattsville, Maryland: National Center for Health Statistics, 2000.

KUROKAWA, N.; NAKAI, K.; KAMEO, S.; LIU, Z.M.; SATOH, H. Relationship Between the  $\beta$ 3-Adrenoceptor Gene variant and Body Fat in Japanese Children. **Tohoku Journal of Experimental Medicine**, v. 201, p. 271-276, 2003.

KUROKAWA, N.; YOUNG, E.H.; OKA, Y. SATOH, H.; WAREHAM, N.J.; SANDHU, M.S.; LOOS, R.J.F. The ADRB3 Trp64Arg variant and BMI: a meta-analysis of 44 833 individuals. **International Journal of Obesity**, v. 32, p. 1240–1249, 2008.

KUSCHNIR, M.C.C.; MENDONÇA, G.A.S. Fatores de risco associados à hipertensão arterial em Adolescentes. **Jornal de Pediatria**, v. 83, n. 4, p. 335-342, 2007

LAHIRI DK, NURNBERGER JI Jr. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. **Nucleic Acids Research**, v. 19, p. 5444-5444, 1991.

LAZZER, S.; BOIRIE, Y.; POISSONNIER, C.; PETIT, I.; DUCHE, P.; TAILLARDAT, M.; MEYER, M; VERMORE, M. Longitudinal changes in activity patterns, physical capacities, energy expenditure, and body composition in severely obese adolescents during a multidisciplinary weight-reduction program. **International Journal of Obesity**, v. 29, p. 37–46, 2005.

LEITE, N. Obesidade Infanto-juvenil: efeito da atividade física e da orientação nutricional sobre a resistência a insulina. **Tese de doutorado Universidade Federal do Paraná**. 2005.

LEITE, N.; MILANO, G.E.; CIESLACK, F.; RADOMINSKI, R.B. Effects of physical exercise and nutritional guidance on metabolic syndrome in obese adolescents. **Revista brasileira de fisioterapia**. 2009.

LINDSTRÖM, M. Means of transportation to work and overweight and obesity: A population-based study in southern Sweden. **Preventive Medicine** v. 46, p. 22–28, 2008.

LOHMAN, T.G.; ROCHE, A.F.; MARTOREL, R. **Anthropometrics standartization reference manual**. Ilinois: Human Kinetics, 1988.

LUIS, DA; GONZALEZ , MS; ALLER, R; IZAOLA, O; CONDE, R. Influence of the Trp64Arg polymorphism in the beta 3 adrenoreceptor gene on insulin resistance, adipocytokine response, and weight loss secondary to lifestyle modification in obese patients. **European Journal of Internal Medicine**, V. 18, p. 587–592, 2007.

LUIS, D.A.; SAGRADO M.G.; ALLER, R.; IZAOLA, O.; CONDE, R. Influence of Trp64Arg Polymorphism of Beta 3-Adrenoreceptor Gene on Insulin Resistance, Adipocytokines and Weight Loss Secondary to Two Hypocaloric Diets. **Annals Nutrition Metabolism**, v. 54, p.104–110, 2009.

MACHO-AZCARATE, T.; MARTI, A.; GONZALEZ, A.; MARTINEZ, JÁ; IBANEZ, J. Gln27Glu polymorphism in the beta2 adrenergic receptor gene and lipid metabolism during exercise in obese women **International Journal of Obesity**, v. 26, p. 1434–1441, 2002.



MALIK, S.G.; SARASWATI, M.R.; SUASTIKA, K.; TRIMARSANTO, H.; OKTAVIANTHI, S.; SUDOYO, H. Association of beta3-adrenergic receptor (ADRB3) Trp64Arg gene polymorphism with obesity and metabolic syndrome in the Balinese: a pilot study. **BMC Research Notes**, v. 4, v.167, p. 1-7, 2011.

MATSUSHITA, Y.; YOKOYAMA, T.; YOSHIKE, N.; MATSUMURA, Y.; DATE, C.; KAWAHARA, K.; TANAKA, H. The Trp64Arg Polymorphism of the  $\beta$ -3-Adrenergic Receptor Gene Is Not Associated with Body Weight or Body Mass Index in Japanese: A Longitudinal Analysis. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism** 88(12):5914–5920, 2003.

MASUO K, KATSUYA T, KAWAGUCHI H, FU Y, RAKUGI H, OGIHARA T, *et al.* Rebound weight gain as associated with high plasma norepinephrine levels that are mediated through polymorphisms in the beta2-adrenoceptor. **Jornal of the American Society of Hypertension**, v.18, n.11, 1508-16, 2005.

MASUO, K; RAKUGI, H; OGIHARA, T. Relationships of Beta2- and Beta3--Adrenoceptor Polymorphisms with Obesity, Hypertension and Metabolic Syndrome **Current Hypertension Reviews**, V. 6, N. 2, p. 118-129, 2010.

MATTEVI, S.V.; ZEMBRZUSKI, V.M.; HUTZ, R. Impact of variation in ADRB2, ADRB3, and GNB3 genes on body mass index and waist circumference in a Brazilian population. **American Journal of Human Biology** v.18, p.182-186, 2006.

MCCORMACK, G.R.; CORTI, B.G.; BULSARA, M. The relationship between destination proximity, destination mix and physical activity behaviors. **Preventive Medicine**, v. 46, p. 33–40, 2008.

MEHTA, N.K.; CHANG, V.W. Weight Status and Restaurant Availability A Multilevel Analysis. **American Journal of Preventive Medicine**, v. 34, n. 2, p. 127–133, 2008.

MEYER, A.A.; KUNDT, G.; LENSCHOW, U.; SCHUFF-WERNER, P.; , W. Improvement of Early Vascular Changes and Cardiovascular Risk Factors in Obese Children After a Six-Month Exercise Program. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 48, n. 9, p.1 865–1870, 2006.

MILANO, G.E.; LEITE, N. Comparação das Variáveis Cardiorrespiratórias de Adolescentes Obesos e não Obesos em Esteira e Bicicleta Ergométrica. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 15, n. 4, p. 251-254, 2009.

MIRRAKHIMOV, A.E.; KERIMKULOVA, A.S.; LUNEGOVA, O.S.; MOLDOKEEVA, C.B.; ZALESSKAYA, Y.V.; ABILOVA, S.S.; SOVHOZOVA, N.A.; ALDASHEV, A.A.; MIRRAKHIMOV, E.M. An association between TRP64ARG polymorphism of the B3 adrenoreceptor gene and some metabolic disturbances. **Cardiovascular Diabetology**, v. 10, n. 89, p. 1-7, 2011.

MITCHELL, B.D.; BLANGERO, J.; COMUZZIE, A.G.; ALMASY, L.A.; SHULDINER, A.R.; SILVER, K.; STERN, M.P.; MACCLUER, J.W.; HIXSON, J.E. A Paired Sibling Analysis of the Beta-3 Adrenergic Receptor and Obesity in Mexican Americans. **Journal of Clinical Investigation**, n.101, v.3, p. 584-587, 1998.

MOLNÁR D., SCHUTZ, Y. The effect of obesity, age, puberty and gender on resting metabolic rate in children and adolescents. **European Journal of Pediatrics**, v.156, p. 376 - 381, 1997.

MORENO-ALIGA, J.; SANTOS, J.L.; MARTÍNEZ, J.A. Does weight loss prognosis depend on genetic make-up? **Obesity Reviews**, v. 6, p. 155-168, 2005.

MOSER, D. Indicadores antropométricos e pressão arterial em escolares da rede municipal de Curitiba-PR. **Dissertação de mestrado Universidade Federal do Paraná**, 2010.

NAGASE, T.; AOKI, A.; YAMAMOTO, M.; YASUDA, H.; KADO, S.; NISHIKAWA, M.; KUGAI, N.; AKATSU, T.; NAGATA, N. Lack of Association between the Trp64Arg Mutation in the b3-Adrenergic Receptor Gene and Obesity in Japanese Men: A Longitudinal Analysis. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 82, n. 4, p. 1284-1287, 1997.

OCHOA, M.C.; MARTI, A.; AZCONA, C.; CHUECA, M.; OYARZA´BAL, M.; PELACH, R.; PATINO, A.; MORENO-ALIAGA, M.J.; MARTINEZ-GONZALEZ, M.A.; MARTINEZ, J.A. Gene–gene interaction between PPARc2 and ADRb3 increases obesity risk in children and adolescents. **International Journal of Obesity**, v. 28, p. S37–S41, 2004.

OGURI, K.; TACHI, T. MATSUOKA, T. Visceral fat accumulation and metabolic syndrome in children: the impact of Trp64Arg polymorphism of the beta3-adrenergic receptor gene. **Acta Paediatrica**, v. 102, p. 1-7, 2013.

ORTEGA, F.B.; RUIZ, J.R.; CASTILLO, M.J.; SJÖSTRÖM, M. Physical fitness in childhood and adolescence: a powerful marker of health. **International Journal of Obesity**, v. 32, p. 1-11, 2008.

PHARES, DA; HALVERSTADT, AA; SHULDINER, AR; FERRELL, RE.; DOUGLASS, LW; RYAN, AS; GOLDBERG, AP; HAGBERG, JM. Association Between Body Fat Response to Exercise Training and Multilocus *ADP* Genotypes. **Obesity Research**, v. 12, n. 5, p. 807-815, 2004.

PEREIRA, A.C.; FLORIANO, M.S.; MOTA, G.F.A.; CUNHA, R.S.; HERKENHOFF, F.L.; MILL, J.G.; KRIEGER, J.E. Interactions in the General Population b2 Adrenoceptor Functional Gene Variants, Obesity, and Blood Pressure Level. **Hypertension**, v. 42, p.685-692, 2003.

PODOLSKY, R.H.; BARBEAU, P.; KANG, H-S. ZHU, H.; TREIBER, F.A.; SNIEDER, H. Candidate genes and growth curves for adiposity in African- and European-American youth. **International Journal of Obesity**, v. 31, p. 1491–1499, 2007.

PORTO, P.I.; SILVIA, I.G.; DIEUZEIDE, G.; GONZÁLEZ, C.; LANDA, M.S.; PIROLA, C.J. Clinical Features of the Metabolic Syndrome in Adolescents: Minor Role of the Trp64Arg \_3-Adrenergic Receptor Gene Variant. **Pediatric Research**, v. 55, n. 5, p. 836- 841, 2004.

RANKINEN, T. *et al.* The Human Obesity Gene Map: The 2005 Update. **Obesity** Vol.14 No.4 April 2005.

REINEHR T, ROTH C, MENKE T, ANDLER W. Adiponectin before and after weight loss in obese children. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(8):3790-4.

REYBROUCKS, T.; MERTENS,L.; SCHEPERS, D.; VINCKIX, J.; GEWILLING,M. Assessment of cardiorespiratory exercise function in obese children and adolescents by body mass-independent parameters. **European Journal of Applied Physiology**, v.75, p. 478-483, 1997.

RODRIGUES, A.M.; SUPLICY, H.L.; RADOMINSKI, R.B. Controle Neuroendócrino do Peso Corporal: Implicações na Gênese da Obesidade. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**, v.47, n. 4, p. 398-409, 2003.

RODRIGUES, A.E.; MAROSTEGAN P.F.; MANCINI, M.C.; DALCANALE L.; MELO ME; CERCATO C.; HALPERN A. Análise da Taxa Metabólica de Repouso Avaliada por Calorimetria Indireta em Mulheres Obesas com Baixa e Alta Ingestão Calórica. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**, v.52, n. 1, p. 76-84, 2008.

ROLA, M.G.; FERREIRA, L.B. Polimorfismos genéticos associados à hipertensão arterial sistêmica. **Univ. Ci. Saúde, Brasília**, v. 6, n. 1, p. 57-68, 2008.

ROSMOND, R.; UKKOLA, O.; CHAGNON, M.; BOUCHARD, C.; BJOË RNTORP, P. Polymorphisms of the b2-adrenergic receptor gene (ADRB2) in relation to cardiovascular risk factors in men. **Journal of Internal Medicine** v. 248, p. 239-244, 2000.

ROWLAND, T.W.; VARZEUS, M.R.; WALSH, C.A. Aerobic responses to walking training in sedentary adolescents. **Journal of Adolescence Health Care**, v. 12, p. 30-34, 1991.

RUIZ, J.R.; LARRARTE, E.; MARGARETO, J.; ARES, R.; LABAYEN, I. Role of  $\beta$ 2-Adrenergic Receptor Polymorphisms on Body Weight and Body Composition Response to Energy Restriction in Obese Women: Preliminary Results. **Obesity**, v. 19, p. 212–215, 2011.

SHIWAKU, K.; NOGI, A.; ANUURAD, E.; KITAJIMA, K.; ENKHMAA, B.; SHIMONO, K.; YAMANE, Y. Difficulty in losing weight by behavioral intervention for women with Trp64Arg polymorphism of the b3-adrenergic receptor gene. **International Journal of Obesity**, v. 27, p. 1028–1036, 2003.

SILVA, A. G da. **Avaliação da resposta vasodilatadora em crianças obesas portadoras de polimorfismo dos receptores  $\beta$ 2-adrenérgico**. Dissertação de mestrado. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, São Paulo, 2007.

SOTHERN MS; LOFTIN M; SUSKIND RM; UDALL JN; BLECKER U. The impact of significant weight loss on resting energy expenditure in obese youth. **Journal of Investigative Medicine**, v. 47, n.5, p. 222-226, 1999.

TAFEL, J.; BRANSCHIED, I.; SKWARNA, B.; SCHLIMME, M.; MORCOS, M.; ALGENSTAEDT, P.; HINNEY, A.; HEBEBRAND, J.; NAWROTH, P.; HAMANN, A. Variants in the human b1-, b2- and b3-adrenergic receptor genes are not associated with morbid obesity in children and adolescents. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 6, p. 452–455, 2004.

TAHARA, A.; OSAKI, Y.; KISHIMOTO, T. Influence of beta 3-adrenergic receptor Trp64Arg polymorphism on the improvement of metabolic syndrome by exercise-based intervention in Japanese middle-aged males. **Obesity Research & Clinical Practice**, v. 5, p. 109—117, 2011.

TANNER, J. M. Normal growth and techniques of growth assessment. **Clinics in Endocrinology and Metabolism**, v. 15, n. 3, p. 411-451, 1986.

TCHERNOF, A.; STARLING, R.D.; TURNER, A.; SHULDINER, A.R.; WALSTON, J.D.; SILVER, K.; POEHLMAN, E.T. Impaired Capacity to Lose Visceral Adipose Tissue During Weight Reduction in Obese Postmenopausal Women With the Trp64Arg  $\beta$ -Adrenoceptor Gene Variant. **Diabetes**, n. 49, p. 1709-1713, 2000.

THE FOURTH REPORT ON THE DIAGNOSIS, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD PRESSURE IN CHILDREN AND ADOLESCENTS. *Pediatrics*, v. 114, n. 2, p. 555-576, 2004. Disponível em: <  
[http://www.nhlbi.nih.gov/health/prof/heart/hbp/hbp\\_ped.pdf](http://www.nhlbi.nih.gov/health/prof/heart/hbp/hbp_ped.pdf)>. Acesso em: 29 jan. 2013.

THOMAS NE, COOPER SM, WILLIAMS SP, BAKER JS, DAVIES B. Relationship of fitness, fatness, and coronary-heart-disease risk factors in 12- to 13-year-olds. *Pediatr Exerc Sci*. 2007;19(1):93-101.

TÖRÖK, K.; SZELÉNYI, Z.; PÖRZÁSZ, I.; MOLNÁR, D. Low physical performance in obese adolescent boys with metabolic syndrome. **International Journal of Obesity**, v. 25, p.966-970, 2001.

UKKOLA, O.; TREMBLAY, A.; BOUCHARD, C. Beta-2 adrenergic receptor variants are associated with subcutaneous fat accumulation in response to long-term overfeeding. **International Journal of Obesity**, v. 25, p. 1604–1608, 2001.

VILLARES, SM; MANCINI, MC; GOMEZ, S; CHARF, AM; FRAZZATTO, E; HALPERN, A. Associação Entre Polimorfismo Gln27Glu do Receptor  $\beta$ 2-Adrenérgico e Hipertensão Arterial Sistêmica em Obesos Mórbidos. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**, v. 44, n. 1. p. 72-80, 2000.

WALSTON, JEREMY, ROSS E. ANDERSEN, MICHAEL SEIBERT, HEATHER HILFIKER, BROCK BEAMER, JACOB BLUMENTHAL, AND ERIC T. POEHLMAN. Arg64  $\beta$ -adrenoceptor variant and the components of energy expenditure. **Obesity Research**, v.11, p.509-511, 2003.

WARDLE J, CARNELL S, HAWORTH CMA, PLOMIN R. Evidence for a strong genetic influence on childhood adiposity despite the force of the obesogenic environment. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 87, p. 398 – 404, 2008.

WEN, L.M.; RISSEL, C. Inverse associations between cycling to work, public transport, and overweight and obesity: Findings from a population based study in Australia. **Preventive Medicine**, v. 46, p. 29–32, 2008.

WILFLEY, D.E.; TIBBS, T.L.; VAN BUREN, D.J.; REACH, K.P.; WALKER, M.S.; EPSTEIN, L.H. Lifestyle Interventions in the Treatment of Childhood Overweight: A Meta-Analytic Review of Randomized Controlled Trials. **Health Psychology**, v. 26, n. 5, 521–532, 2007.

XINLIL, W.; XIAOMEI, T.; MEIHUA P.; SONG, L. Association of a mutation in the b3-adrenergic receptor gene with obesity and response to dietary intervention in Chinese children. **Acta Paediatrica**, v. 90, p. 1233-1237, 2001.

ZHU, L.; HU, L.; LI, X.; WANG, G.; SHAN, W.; MA, L.; WANG, X. Relationship between Trp64Arg mutation in the  $\beta$ 3-adrenergic receptor gene and metabolic syndrome: a seven-year follow-up study. **Chinese Medical Journal**, n. 123, v. 17, p. 2375-2378, 2010

## APÊNDICES

APÊNDICE 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO .....	103
APÊNDICE 2 - PROTOCOLO PARA EXTRAÇÃO DE DNA MODIFICADO POR LAHIRI & NURNBERGER.....	105

## APÊNDICE 1

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

#### TÍTULO DO PROJETO:

**INVESTIGADOR:** Gerusa Eisfeld Milano

**LOCAL DA PESQUISA:** Departamento de Educação Física e Genética

**Telefone** (41) 3361 1554

---

Você está sendo convidado (a) para participar de uma pesquisa. Este termo de consentimento livre e esclarecido tem informações para ajudá-lo a decidir se irá permitir que seu filho (a) participe deste estudo.

O objetivo deste estudo é investigar fatores de predisposição genética à obesidade em adolescentes submetidos a sessões de exercícios físicos e de orientação nutricional.

Caso o seu filho participe da pesquisa, será necessário fazer exames de rotina médica, bioimpedância, testes cardiorrespiratórios em esteira e bicicleta ergométrica, avaliação do estágio puberal e eletrocardiograma.

Como em qualquer tratamento seu filho (a) poderá experimentar alguns desconfortos, principalmente relacionados ao uso de máscara na calorimetria, ao utilizar o bucal e o clamp nasal para respiração exclusivamente oral e dores musculares e articulares após os testes ergométricos máximos.

Os riscos que envolvem a avaliação de seu filho (a) são dores musculares e articulares após o teste ergométrico.

Para tanto seu filho deverá comparecer no Núcleo de pesquisa em Qualidade de Vida, localizado no Departamento de Educação Física da Universidade federal do Paraná, para consulta médica realizar a avaliação puberal, bioimpedância, calorimetria em repouso e avaliação cardiorrespiratória em esteira e bicicleta ergométrica.

Estão garantidas todas as informações que você queira, antes, durante e após o estudo.

A participação de seu filho (a) é voluntária. Você tem a liberdade de recusar a participar do estudo, ou retirar seu consentimento a qualquer momento.

As informações relacionadas ao estudo poderão ser inspecionadas pelos médicos que executam a pesquisa e pelas autoridades legais, no entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada, para que a confidencialidade seja mantida.



Todas as despesas necessárias para a realização da pesquisa **não** são da responsabilidade do paciente ou do seu responsável.

Pela participação do seu filho (a) no estudo, você não receberá qualquer valor em dinheiro.

Quando os resultados forem publicados, não aparecerá o nome de filho (a), e sim um código.

Durante o estudo seu filho (a) não poderá ingerir medicamentos sem informar antecipadamente os pesquisadores responsáveis por este estudo.

Eu, \_\_\_\_\_ li o texto acima e compreendi a natureza e objetivo de estudo no qual meu filho (a) \_\_\_\_\_ foi convidado (a) a participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios do estudo. Entendi que sou livre para interromper a sua participação no estudo a qualquer momento sem justificar a minha decisão e sem que esta decisão afete o seu tratamento com o seu médico. Eu entendi que não posso fazer durante o estudo e sei que qualquer problema relacionado ao tratamento será tratado sem custos para mim ou para o meu filho (a).

Eu concordo voluntariamente do (a) meu (minha) filho (a) em participar deste estudo.

## APÊNDICE 2

### PROTOCOLO PARA EXTRAÇÃO DE DNA MODIFICADO POR LAHIRI E NURNBERGER

1. Coletar 10ml de sangue com anticoagulante EDTA (para preservar melhor o material para a expressão de DNA). Centrifugar o material coletado a 2500 rpm (velocidade 4) durante 20 min para separar o creme de leucócitos (uma camada clara facilmente visível e que será utilizada para extrair p DNA);
2. Após obter o creme de leucócitos, o mesmo poderá ser congelado a -20°C com alguns ml de hemácias, para posterior extração de DNA. O material pode ser estocado nestas condições por tempo indeterminado. Neste caso após descongelar o material novamente realizar a extração sem congelar o material novamente, pois haveria uma redução no material a ser extraído;
3. Em um tubo de centrifuga graduado em 15ml colocar o creme de leucócitos obtido na centrífuga de 10ml de sangue e completar o volume para 10ml com TKM1 (solubilização da membrana);
4. Adicionar 125µl de IGEPAL CA-630 (substitui o NONIDET P-40). Os dois reativos têm a função de lisar os leucócitos para a liberação do DNA;
5. Inverter o tubo firmemente 7 vezes para misturar bem o detergente;
6. Centrifugar a 2500 rpm por 20min;
7. Desprezar o sobrenadante deixando escorrer, virando o tubo levemente para deixar no tubo somente o precipitado;
8. Completar novamente para 10ml de volume com TKM1 e re-suspender o precipitado com pipeta de Pasteur e finaliza levando ao vortex;
9. Centrifugar a 2500 rpm por 20min;
10. Desprezar o sobrenadante. As etapas das 8 - 10 serão realizadas por 3 vezes ou até limpar o material, a finalidade da lavagem do material visa a obtenção de um sedimento limpo;
11. Adicionar 800 µl de TKM2, ressuspender delicadamente o precipitado com micropipeta (1000 µl) e transferir a solução para um eppendorf;
12. Adicionar 50µl de SDS (sal detergente) a 10% a misturar;
13. Incubar no banho Maria a 55°C pelo menos 2h ou durante uma noite toda (solubilização e homogeneização);

14. Tirar do banho Maria e adicionar 300 µl de solução saturada de NaCl (6m) e misturar bem (precipitado de proteína);
15. Centrifugar a 12000 rpm por 20min (precipitado das proteínas) DNA-sobrenadante e proteína – precipitado;
16. Virar o sobrenadante para um tubo de ensaio. No tubo como sobrenadante juntar 2 volumes de etanol 100% (renaturação do DNA), em relação ao volume do sobrenadante tampar o tubo de ensaio e inverte-lo várias vezes até ocorrer a precipitação do DNA. O etanol é utilizado **GELADO**, devendo ser mantido em congelador, pois quanto menor sua temperatura melhor será a precipitação do DNA;
17. Pescar o DNA utilizando micropipeta com ponteira (1000 µl) de ponta cortada e colocar em um eppendorf;
18. Lavar o DNA obtido com etanol 70%, dispensando posteriormente o etanol. O etanol tem como finalidade lavar o DNA obtido. Se o DNA estiver escuro, pode lavar com o etanol 70% por até 3 vezes;
19. Colocar o eppendorf com o DNA na estufa em temperatura de 37°C. O tempo será o suficiente para que ocorra a evaporação do etanol;
20. Ressuspender o DNA em 200 µl de tampão TE. O tampão TE é conservante do DNA;
21. Levar a banho-maria a 55°C por 45min ou até 3 dias, obtendo-se uma suspensão mais viscosa;
22. Deixar na geladeira por 3 dias e verificar a concentração de DNA por densidade ótica. Essa solução corresponde a uma solução estoque. A mesma pode ser diluída com água bidestilada ou TE para experimentos que utilizem DNA;
23. Estocar a -20°C. Se o material não for utilizado no momento ele poderá ser estocado e utilizado posteriormente.

## ANEXOS

ANEXO 1 -	CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA.....	108
ANEXO 2 -	CURVAS DE IMC DO CDC MASCULINA.....	109
ANEXO 3 -	CURVAS DE IMC DO CDC FEMININA.....	110
ANEXO 4 -	TABELA PARA CLASSIFICAÇÃO DA CIRCUNFERÊNCIA ABDOMINAL .....	111
ANEXO 5 -	TABELA PARA A CLASSIFICAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL EM MENINAS.....	112
ANEXO 6 -	TABELA PARA A CLASSIFICAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL EM MENINOS.....	114
ANEXO 7-	DESENVOLVIMENTO DO ESTÁGIO PUBERAL.....	116

## ANEXO 1

## CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



Ministério da Educação  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
Setor de Ciências Biológicas  
Comitê Setorial de Ética em Pesquisa



Projeto: "Adolescentes obesos submetidos a tratamento físico multidisciplinar: Avaliações físicas multidisciplinares e estudos de associação com variantes dos genes *ADBR3*, *BCHE* e *GHRL*".

Pesquisador: Profa. Dra. Lupe Furtado Alle

Protocolo: CEP\_05/09

Departamento: Departamento de Genética

Curitiba, 10 de dezembro de 2009

Prezada Profa. Dra. Lupe Furtado Alle

Em relação a projeto acima citado, venho informá-lo de que este foi avaliado pelo CEP-Biológicas, estando de acordo com a Declaração de Helsinque (e suas atualizações) e com a resolução 196/96 do CNS (e resoluções complementares), tendo sido aprovado pelo comitê. Portanto, a partir desta data poderá ser iniciada a execução e a coleta de dados do referido projeto.

Ressalto que, de acordo com a resolução 196/96 que: (a) o pesquisador deve comunicar a este comitê qualquer alteração no protocolo experimental ou no termo de consentimento (nestas circunstâncias a inclusão deve ser temporariamente suspensa até análise do CEP das modificações propostas); (b) comunicar imediatamente ao CEP qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa; (c) os dados individuais de todos indivíduos devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria; (d) apresentar relatórios semestrais.

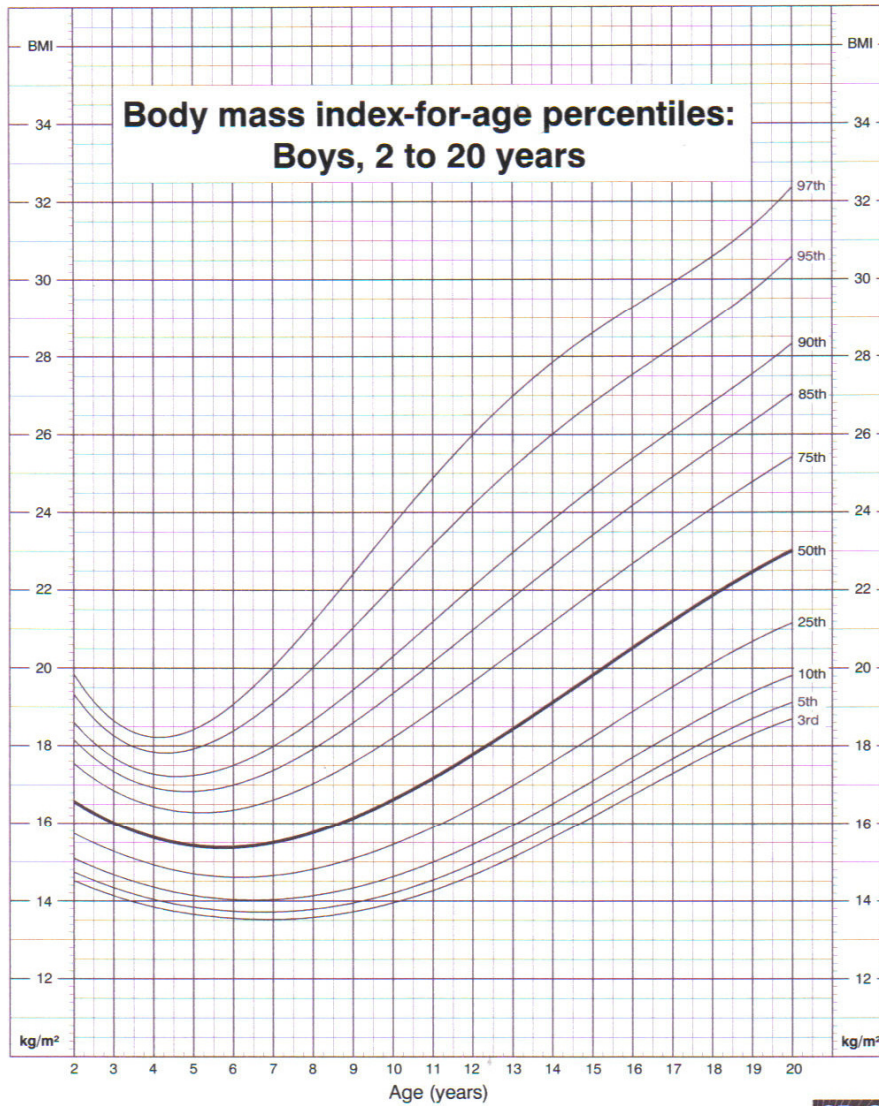
Contando com sua compreensão e apoio, coloco-me à disposição para maiores esclarecimentos, atenciosamente

Prof. Dr. Ricardo Lehtonen R. de Souza  
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisas  
Setor de Ciências Biológicas - UFPR

## ANEXO 2

### CURVAS DE IMC DO CDC MASCULINA

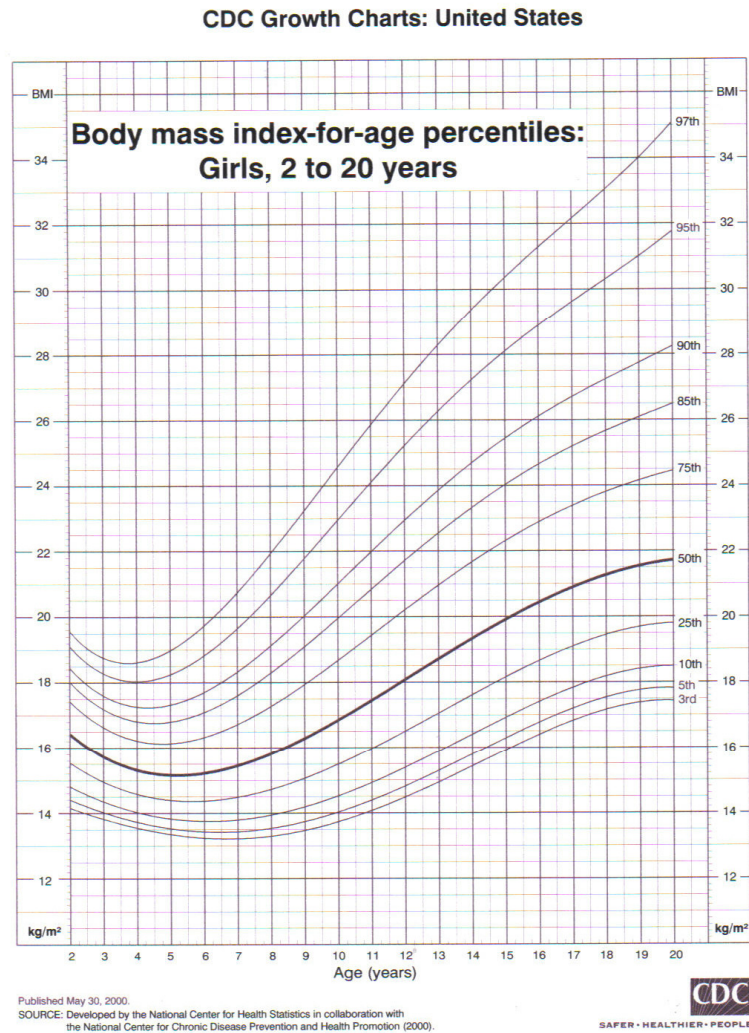
**CDC Growth Charts: United States**



Published May 30, 2000.  
SOURCE: Developed by the National Center for Health Statistics in collaboration with  
the National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion (2000).

# ANEXO 3

## CURVAS DE IMC DO CDC MASCULINA



## ANEXO 4

## TABELA PARA CLASSIFICAÇÃO DA CIRCUNFERÊNCIA ABDOMINAL

Table IV. Estimated value for percentile regression for all children and adolescents combined, according to sex

	Percentile for boys					Percentile for girls				
	10 <sup>th</sup>	25 <sup>th</sup>	50 <sup>th</sup>	75 <sup>th</sup>	90 <sup>th</sup>	10 <sup>th</sup>	25 <sup>th</sup>	50 <sup>th</sup>	75 <sup>th</sup>	90 <sup>th</sup>
Intercept	39.7	41.3	43.0	43.6	44.0	40.7	41.7	43.2	44.7	46.1
Slope	1.7	1.9	2.0	2.6	3.4	1.6	1.7	2.0	2.4	3.1
Age (y)										
2	43.2	45.0	47.1	48.8	50.8	43.8	45.0	47.1	49.5	52.2
3	44.9	46.9	49.1	51.3	54.2	45.4	46.7	49.1	51.9	55.3
4	46.6	48.7	51.1	53.9	57.6	46.9	48.4	51.1	54.3	58.3
5	48.4	50.6	53.2	56.4	61.0	48.5	50.1	53.0	56.7	61.4
6	50.1	52.4	55.2	59.0	64.4	50.1	51.8	55.0	59.1	64.4
7	51.8	54.3	57.2	61.5	67.8	51.6	53.5	56.9	61.5	67.5
8	53.5	56.1	59.3	64.1	71.2	53.2	55.2	58.9	63.9	70.5
9	55.3	58.0	61.3	66.6	74.6	54.8	56.9	60.8	66.3	73.6
10	57.0	59.8	63.3	69.2	78.0	56.3	58.6	62.8	68.7	76.6
11	58.7	61.7	65.4	71.7	81.4	57.9	60.3	64.8	71.1	79.7
12	60.5	63.5	67.4	74.3	84.8	59.5	62.0	66.7	73.5	82.7
13	62.2	65.4	69.5	76.8	88.2	61.0	63.7	68.7	75.9	85.8
14	63.9	67.2	71.5	79.4	91.6	62.6	65.4	70.6	78.3	88.8
15	65.6	69.1	73.5	81.9	95.0	64.2	67.1	72.6	80.7	91.9
16	67.4	70.9	75.6	84.5	98.4	65.7	68.8	74.6	83.1	94.9
17	69.1	72.8	77.6	87.0	101.8	67.3	70.5	76.5	85.5	98.0
18	70.8	74.6	79.6	89.6	105.2	68.9	72.2	78.5	87.9	101.0

FONTE: FERNÁNDEZ *et al.* (2004).



## ANEXO 5

### TABELA PARA A CLASSIFICAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL EM MENINAS

TABLE 4

Blood Pressure Levels for Girls by Age and Height Percentile\*

Age (Year)	BP Percentile ↓	Systolic BP (mmHg)							Diastolic BP (mmHg)						
		← Percentile of Height →							← Percentile of Height →						
		5th	10th	25th	50th	75th	90th	95th	5th	10th	25th	50th	75th	90th	95th
1	50th	83	84	85	86	88	89	90	38	39	39	40	41	41	42
	90th	97	97	98	100	101	102	103	52	53	53	54	55	55	56
	95th	100	101	102	104	105	106	107	56	57	57	58	59	59	60
	99th	108	108	109	111	112	113	114	64	64	65	65	66	67	67
2	50th	85	85	87	88	89	91	91	43	44	44	45	46	46	47
	90th	98	99	100	101	103	104	105	57	58	58	59	60	61	61
	95th	102	103	104	105	107	108	109	61	62	62	63	64	65	65
	99th	109	110	111	112	114	115	116	69	69	70	70	71	72	72
3	50th	86	87	88	89	91	92	93	47	48	48	49	50	50	51
	90th	100	100	102	103	104	106	106	61	62	62	63	64	64	65
	95th	104	104	105	107	108	109	110	65	66	66	67	68	68	69
	99th	111	111	113	114	115	116	117	73	73	74	74	75	76	76
4	50th	88	88	90	91	92	94	94	50	50	51	52	52	53	54
	90th	101	102	103	104	106	107	108	64	64	65	66	67	67	68
	95th	105	106	107	108	110	111	112	68	68	69	70	71	71	72
	99th	112	113	114	115	117	118	119	76	76	76	77	78	79	79
5	50th	89	90	91	93	94	95	96	52	53	53	54	55	55	56
	90th	103	103	105	106	107	109	109	66	67	67	68	69	69	70
	95th	107	107	108	110	111	112	113	70	71	71	72	73	73	74
	99th	114	114	116	117	118	120	120	78	78	79	79	80	81	81
6	50th	91	92	93	94	96	97	98	54	54	55	56	56	57	58
	90th	104	105	106	108	109	110	111	68	68	69	70	70	71	72
	95th	108	109	110	111	113	114	115	72	72	73	74	74	75	76
	99th	115	116	117	119	120	121	122	80	80	80	81	82	83	83
7	50th	93	93	95	96	97	99	99	55	56	56	57	58	58	59
	90th	106	107	108	109	111	112	113	69	70	70	71	72	72	73
	95th	110	111	112	113	115	116	116	73	74	74	75	76	76	77
	99th	117	118	119	120	122	123	124	81	81	82	82	83	84	84
8	50th	95	95	96	98	99	100	101	57	57	57	58	59	60	60
	90th	108	109	110	111	113	114	114	71	71	71	72	73	74	74
	95th	112	112	114	115	116	118	118	75	75	75	76	77	78	78
	99th	119	120	121	122	123	125	125	82	82	83	83	84	85	86
9	50th	96	97	98	100	101	102	103	58	58	58	59	60	61	61
	90th	110	110	112	113	114	116	116	72	72	72	73	74	75	75
	95th	114	114	115	117	118	119	120	76	76	76	77	78	79	79
	99th	121	121	123	124	125	127	127	83	83	84	84	85	86	87
10	50th	98	99	100	102	103	104	105	59	59	59	60	61	62	62
	90th	112	112	114	115	116	118	118	73	73	73	74	75	76	76
	95th	116	116	117	119	120	121	122	77	77	77	78	79	80	80
	99th	123	123	125	126	127	129	129	84	84	85	86	86	87	88

Age (Year)	BP Percentile ↓	Systolic BP (mmHg)							Diastolic BP (mmHg)						
		← Percentile of Height →							← Percentile of Height →						
		5th	10th	25th	50th	75th	90th	95th	5th	10th	25th	50th	75th	90th	95th
11	50th	100	101	102	103	105	106	107	60	60	60	61	62	63	63
	90th	114	114	116	117	118	119	120	74	74	74	75	76	77	77
	95th	118	118	119	121	122	123	124	78	78	78	79	80	81	81
	99th	125	125	126	128	129	130	131	85	85	86	87	87	88	89
12	50th	102	103	104	105	107	108	109	61	61	61	62	63	64	64
	90th	116	116	117	119	120	121	122	75	75	75	76	77	78	78
	95th	119	120	121	123	124	125	126	79	79	79	80	81	82	82
	99th	127	127	128	130	131	132	133	86	86	87	88	88	89	90
13	50th	104	105	106	107	109	110	110	62	62	62	63	64	65	65
	90th	117	118	119	121	122	123	124	76	76	76	77	78	79	79
	95th	121	122	123	124	126	127	128	80	80	80	81	82	83	83
	99th	128	129	130	132	133	134	135	87	87	88	89	89	90	91
14	50th	106	106	107	109	110	111	112	63	63	63	64	65	66	66
	90th	119	120	121	122	124	125	125	77	77	77	78	79	80	80
	95th	123	123	125	126	127	129	129	81	81	81	82	83	84	84
	99th	130	131	132	133	135	136	136	88	88	89	90	90	91	92
15	50th	107	108	109	110	111	113	113	64	64	64	65	66	67	67
	90th	120	121	122	123	125	126	127	78	78	78	79	80	81	81
	95th	124	125	126	127	129	130	131	82	82	82	83	84	85	85
	99th	131	132	133	134	136	137	138	89	89	90	91	91	92	93
16	50th	108	108	110	111	112	114	114	64	64	65	66	66	67	68
	90th	121	122	123	124	126	127	128	78	78	79	80	81	81	82
	95th	125	126	127	128	130	131	132	82	82	83	84	85	85	86
	99th	132	133	134	135	137	138	139	90	90	90	91	92	93	93
17	50th	108	109	110	111	113	114	115	64	65	65	66	67	67	68
	90th	122	122	123	125	126	127	128	78	79	79	80	81	81	82
	95th	125	126	127	129	130	131	132	82	83	83	84	85	85	86
	99th	133	133	134	136	137	138	139	90	90	91	91	92	93	93

**FONTE:** The fourth report on the diagnosis, evaluation and treatment of high blood pressure in children and adolescents (2004).

## ANEXO 6

### TABELA PARA A CLASSIFICAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL EM MENINOS

TABLE 3

Blood Pressure Levels for Boys by Age and Height Percentile\*

Age (Year)	BP Percentile ↓	Systolic BP (mmHg)							Diastolic BP (mmHg)						
		← Percentile of Height →							← Percentile of Height →						
		5th	10th	25th	50th	75th	90th	95th	5th	10th	25th	50th	75th	90th	95th
1	50th	80	81	83	85	87	88	89	34	35	36	37	38	39	39
	90th	94	95	97	99	100	102	103	49	50	51	52	53	53	54
	95th	98	99	101	103	104	106	106	54	54	55	56	57	58	58
	99th	105	106	108	110	112	113	114	61	62	63	64	65	66	66
2	50th	84	85	87	88	90	92	92	39	40	41	42	43	44	44
	90th	97	99	100	102	104	105	106	54	55	56	57	58	58	59
	95th	101	102	104	106	108	109	110	59	59	60	61	62	63	63
	99th	109	110	111	113	115	117	117	66	67	68	69	70	71	71
3	50th	86	87	89	91	93	94	95	44	44	45	46	47	48	48
	90th	100	101	103	105	107	108	109	59	59	60	61	62	63	63
	95th	104	105	107	109	110	112	113	63	63	64	65	66	67	67
	99th	111	112	114	116	118	119	120	71	71	72	73	74	75	75
4	50th	88	89	91	93	95	96	97	47	48	49	50	51	51	52
	90th	102	103	105	107	109	110	111	62	63	64	65	66	66	67
	95th	106	107	109	111	112	114	115	66	67	68	69	70	71	71
	99th	113	114	116	118	120	121	122	74	75	76	77	78	78	79
5	50th	90	91	93	95	96	98	98	50	51	52	53	54	55	55
	90th	104	105	106	108	110	111	112	65	66	67	68	69	69	70
	95th	108	109	110	112	114	115	116	69	70	71	72	73	74	74
	99th	115	116	118	120	121	123	123	77	78	79	80	81	81	82
6	50th	91	92	94	96	98	99	100	53	53	54	55	56	57	57
	90th	105	106	108	110	111	113	113	68	68	69	70	71	72	72
	95th	109	110	112	114	115	117	117	72	72	73	74	75	76	76
	99th	116	117	119	121	123	124	125	80	80	81	82	83	84	84
7	50th	92	94	95	97	99	100	101	55	55	56	57	58	59	59
	90th	106	107	109	111	113	114	115	70	70	71	72	73	74	74
	95th	110	111	113	115	117	118	119	74	74	75	76	77	78	78
	99th	117	118	120	122	124	125	126	82	82	83	84	85	86	86
8	50th	94	95	97	99	100	102	102	56	57	58	59	60	60	61
	90th	107	109	110	112	114	115	116	71	72	72	73	74	75	76
	95th	111	112	114	116	118	119	120	75	76	77	78	79	79	80
	99th	119	120	122	123	125	127	127	83	84	85	86	87	87	88
9	50th	95	96	98	100	102	103	104	57	58	59	60	61	61	62
	90th	109	110	112	114	115	117	118	72	73	74	75	76	76	77
	95th	113	114	116	118	119	121	121	76	77	78	79	80	81	81
	99th	120	121	123	125	127	128	129	84	85	86	87	88	88	89
10	50th	97	98	100	102	103	105	106	58	59	60	61	61	62	63
	90th	111	112	114	115	117	119	119	73	73	74	75	76	77	78
	95th	115	116	117	119	121	122	123	77	78	79	80	81	81	82
	99th	122	123	125	127	128	130	130	85	86	86	88	88	89	90

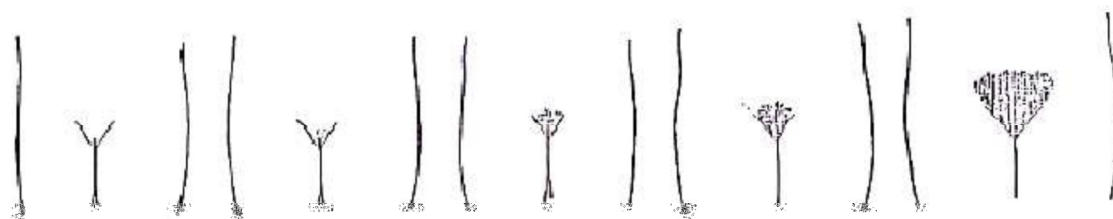
Age (Year)	BP Percentile ↓	Systolic BP (mmHg)							Diastolic BP (mmHg)						
		← Percentile of Height →							← Percentile of Height →						
		5th	10th	25th	50th	75th	90th	95th	5th	10th	25th	50th	75th	90th	95th
11	50th	99	100	102	104	105	107	107	59	59	60	61	62	63	63
	90th	113	114	115	117	119	120	121	74	74	75	76	77	78	78
	95th	117	118	119	121	123	124	125	78	78	79	80	81	82	82
	99th	124	125	127	129	130	132	132	86	86	87	88	89	90	90
12	50th	101	102	104	106	108	109	110	59	60	61	62	63	63	64
	90th	115	116	118	120	121	123	123	74	75	75	76	77	78	79
	95th	119	120	122	123	125	127	127	78	79	80	81	82	82	83
	99th	126	127	129	131	133	134	135	86	87	88	89	90	90	91
13	50th	104	105	106	108	110	111	112	60	60	61	62	63	64	64
	90th	117	118	120	122	124	125	126	75	75	76	77	78	79	79
	95th	121	122	124	126	128	129	130	79	79	80	81	82	83	83
	99th	128	130	131	133	135	136	137	87	87	88	89	90	91	91
14	50th	106	107	109	111	113	114	115	60	61	62	63	64	65	65
	90th	120	121	123	125	126	128	128	75	76	77	78	79	79	80
	95th	124	125	127	128	130	132	132	80	80	81	82	83	84	84
	99th	131	132	134	136	138	139	140	87	88	89	90	91	92	92
15	50th	109	110	112	113	115	117	117	61	62	63	64	65	66	66
	90th	122	124	125	127	129	130	131	76	77	78	79	80	80	81
	95th	126	127	129	131	133	134	135	81	81	82	83	84	85	85
	99th	134	135	136	138	140	142	142	88	89	90	91	92	93	93
16	50th	111	112	114	116	118	119	120	63	63	64	65	66	67	67
	90th	125	126	128	130	131	133	134	78	78	79	80	81	82	82
	95th	129	130	132	134	135	137	137	82	83	83	84	85	86	87
	99th	136	137	139	141	143	144	145	90	90	91	92	93	94	94
17	50th	114	115	116	118	120	121	122	65	66	66	67	68	69	70
	90th	127	128	130	132	134	135	136	80	80	81	82	83	84	84
	95th	131	132	134	136	138	139	140	84	85	86	87	87	88	89
	99th	139	140	141	143	145	146	147	92	93	93	94	95	96	97

**FONTE:** The fourth report on the diagnosis, evaluation and treatment of high blood pressure in children and adolescents (2004).

## ANEXO 7

### DESENVOLVIMENTO DO ESTÁGIO PUBERAL

FIGURA 7 – Cinco estágios do desenvolvimento de pêlos púbicos femininos em desenhos



FONTE: Adaptado de FAULKNER, R. A. **Maturation**. In: DOCHERTY, D. *Measurement in pediatric exercise science*. Canada: Human Kinetics, 1996, p. 151.

FIGURA 9 – Cinco estágios do desenvolvimento de pêlos púbicos masculino em desenhos



FONTE: Adaptado de FAULKNER, R. A. **Maturation**. In: DOCHERTY, D. *Measurement in pediatric exercise science*. Canada: Human Kinetics, 1996, p. 152.

**FONTE:** TANNER (1986).